PRODUTIVIDADE DO MILHO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DO SOLO SOB INFLUÊNCIA DE FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES E DE ADUBAÇÃO ORGÂNICA

INGRID ALEXSSANDRA NERIS LINO

RECIFE

FEVEREIRO/2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS

PRODUTIVIDADE DO MILHO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DO SOLO SOB INFLUÊNCIA DE FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES E DE ADUBAÇÃO ORGÂNICA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos do Departamento de Micologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia de Fungos.

Área de Concentração:
Micologia Aplicada

Aluna:
Ingrid Alexssandra Neris Lino

Orientadora:
Dra. Leonor Costa Maia

Co-orientador:
Dr. EverardoValadares de Sá Barreto Sampaio

RECIFE

FEVEREIRO/2014

Catalogação na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Lino, Ingrid Alexssandra Neris

Produtividade do milho e atividade biológica do solo sob influência de fungos micorrízicos arbusculares e de adubação orgânica/ Ingrid Alessandra Neris Lino– Recife: O Autor, 2014.

55 folhas : il., fig., tab.
Orientadora: Leonor Costa Maia
Coorientador: Everardo Valadares de Sá Barreto Sampaio
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas, Biologia de Fungos, 2014.

Inclui bibliografia

1. Fungos micorrízicos 2. Milho 3. Adubos e fertilizantes I. Maia, Leonor Costa (orientadora) II. Sampaio, Everardo Valadares de Sá Barreto (coorientador) III. Título

579.5 CDD (22.ed.) UFPE/CCB-2015-61

PRODUTIVIDADE DO MILHO E ATIVIDADE BIOLÓGICA DO SOLO SOB INFLUÊNCIA DE FUNGOS MICORRIZICOS ARBUSCULARES E DE ADUBAÇÃO ORGÂNICA

INGRID ALEXSSANDRA NERIS LINO

Data da defesa: 25/02/2014

Situação: Aprovada

COMISSÃO EXAMINADORA

MEMBROS TITULARES

Drª Leonor Costa Maia (orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Rômulo Simões Cezar Menezes – Examinador Externo

Universidade Federal de Pernambuco

Drª. Adriana Mayumi Yano-Melo – Examinador Interno

Universidade Federal do Vale de São Francisco

“Eu te amo, ó Senhor, força minha. O Senhor é a minha rocha, a minha cidadela, o meu libertador; o meu Deus, o meu rochedo em que me refugio; o meu escudo, a força da minha salvação, o meu baluarte.”

(Salmo 18:1)

À minha família e ao meu esposo,

dedico.

Agradecimentos

A Deus, Ser Supremo, pela dádiva de estar viva e saudável, por ter me acolhido como filha, por estar atento às minhas orações e súplicas, por derramar bênçãos de força e consolo nos momentos difíceis da minha vida e por ter permitido mais essa conquista na minha caminhada.

À Capes pela bolsa de estudos.

À minha orientadora Dra. Leonor Costa Maia, pela orientação nos projetos de iniciação científica (2009, 2010 e 2011), que me permitiram os primeiros passos na vida acadêmica, e pela orientação no mestrado.

Ao meu co-orientador Dr. Everardo Sampaio pela orientação nas etapas de campo e análises estatísticas.

Aos meus pais, José Alexandre e Verônica Maria, por sempre acreditarem e apoiarem os meus sonhos, pela educação e pelo lindo amor que me permitiu a vida.

Ao meu marido Thiago Correia pelo imenso amor, companheirismo, preocupação, pelos abraços de conforto, pelos momentos de cumplicidade e respeito durante esses nove anos que estamos juntos e pelo apoio e incentivo nas minhas realizações.

Às minhas irmãs Thacianna e Stephanie pelos momentos maravilhosos que passamos juntas, pelo carinho e brincadeiras que confidenciamos.

Aos amigos dos Departamentos de Micologia e Energia nuclear, pela ajuda na montagem dos experimentos e coletas, em especial a Danielle Karla, Renata Souza, Camila Maciel, Natália Mirelle, Júlio César, Kennedy Nascimento e Heloísa Medeiros.

Por fim, a todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste trabalho.

RESUMO GERAL

O uso combinado de inóculos micorrízicos e esterco bovino pode incrementar a produtividade vegetal e a fertilidade do solo. O objetivo do presente trabalho foi determinar se a aplicação de inóculos micorrízicos, com e sem adubação orgânica, influenciam positivamente a produtividade da cultura do milho e a atividade biológica do solo. A influência foi determinada em experimentos de campo conduzidos em 2012 e 2013 no município de São João, PE, com quatro tratamentos de inoculação (três inoculados e um sem inoculação) e dois de adubação orgânica (com e sem esterco bovino). Nas condições testadas, a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares não foi suficiente para aumentar a produtividade e a composição mineral de plantas de milho em condições de campo, independente da adubação. A aplicação do esterco bovino em plantios de milho influenciou positivamente a produtividade, enquanto o efeito na composição mineral das plantas variou conforme o nutriente analisado e as condições hídricas às quais a cultura foi submetida. Os teores de proteínas relacionadas à glomalina e a atividade microbiana do solo não foram influenciados significativamente pela adubação orgânica e pela inoculação com FMA, o que pode estar relacionado ao tempo de duração do experimento, considerado insuficiente para permitir a mensuração dos efeitos do adubo e dos inóculos. A inoculação com FMA em sistemas agrícolas pode trazer benefícios significativos em longo prazo, uma vez que contribui com o potencial infectivo do solo, verificado pela maior densidade de glomerosporos no solo e maior colonização micorrízica nas plantas inoculadas. Doses maiores de inóculos micorrízicos devem ser analisadas em associação com doses menores de esterco bovino, visando aumento da produtividade da cultura.

Palavras-chave: atividade microbiana, fungos micorrízicos, sistemas agrícolas

ABSTRACT

The combined use of mycorrhizal inoculants and manure can increase crop productivity and soil fertility. The objective of this study was to determine whether the application of mycorrhizal inoculum, with and without fertilization, positively influence productivity of maize under field conditions, and soil biological activity. The influence was determined in field experiments conducted in 2012 and 2013 in the city of São João, PE, with four inoculation treatments (three inoculated and one non-inoculated) and two fertilization treatments organic manure (with and without manure). Under the conditions tested, inoculation with mycorrhizal fungi did not affect productivity and mineral composition of corn plants under field conditions, independent of fertilization. The application of manure in maize positively influenced productivity, while the effect on the mineral composition of the plants varied according to the nutriente analyzed and moisture conditions to which the culture was submitted. The levels of proteins related to glomalin and soil microbial activity were not significantly influenced by organic fertilization and the inoculation with AMF, which may be related to the duration of the experiment, considered insufficient to allow measurement of the effects of fertilizer and inoculants. Inoculation with AMF in agricultural systems can bring significant long-term benefits, as it helps with the infective potential of the soil, verified by the higher density glomerosporos the soil and greater mycorrhizal colonization in the inoculated plants. Higher doses of mycorrhizal inoculants should be analyzed in combination with lower doses of manure, aiming to increase crop productivity.

Key-words: microbial activity, mycorrhizal fungi, agricultural systems

Lista de tabelas

		Pág.
Tabela 1 -	Precipitação pluviométrica mensal e acumulada nos anos de 2012 e 2013 no município de São João, PE	30
Tabela 2 -	Fertilidade inicial do solo da área experimental do município de São João, PE	30
Tabela 3 -	Tratamentos distribuídos aleatoriamente em cada bloco	31
Tabela 4 -	Altura (AL), diâmetro do colmo (DC) e número de espigas (ES) das oito plantas de milho da área útil associadas aos FMA introduzidos e nativos em solo com e sem esterco bovino, no município de São João, PE	35
Tabela 5 -	Produtividade de matéria seca de grãos e palhada (folhas + colmos + sabugo) e índice de colheita (IC) de grãos de milho cultivado em solo com e sem esterco bovino após a introdução de inóculos de FMA, no município de São João, PE	36
Tabela 6 -	Média de espigas por área útil em plantas cultivadas em solo com e sem esterco bovino independentemente dos tratamentos de inoculação com FMA, no município de São João, PE, 2013	37
Tabela 7 -	Concentrações de nutrientes da parte aérea de plantas de milho associadas aos FMA introduzidos e nativos em solo com e sem esterco bovino, no município de São João, PE	39
Tabela 8 -	Percentual de colonização micorrízica em plantas de milho associadas aos FMA introduzidos e nativos em solo com e sem esterco bovino, no município de São João, PE	41
Tabela 9 -	Número de glomerosporos (NG) antes e após a introdução de FMA exóticos em solo com e sem esterco bovino em cultivo de milho, no município de São João, PE	42
Tabela 10 -	Proteínas do solo reativas ao Bradford facilmente extraíveis (PSRB-FE) antes e após a introdução de FMA em solo com e sem esterco bovino em cultivo de milho, no município de São João, PE	44

Tabela 11 - Proteínas do solo reativas ao Bradford (PSRB) antes e após a introdução de FMA em solo com e sem esterco bovino em cultivo de milho, no município de São João, PE 45
Tabela 12 - Respiração microbiana (RES) antes e após a introdução de FMA exóticos em solo com e sem esterco bovino em cultivo de milho, no município de São João, PE 46
Tabela 13 - Carbono da biomassa microbiana (CBM) antes e após a introdução de FMA exóticos em solo com e sem esterco bovino em cultivo de milho, no município de São João, PE 47

SUMÁRIO

Pág.

1. INTRODUÇÃO..... 12
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA..... 14
2.1. Milho (*Zea mays* L.)..... 14
2.2. Produtividade do milho..... 14
2.3. Fatores que afetam a produtividade do milho..... 15
2.3.1. Temperatura..... 15
2.3.2. Disponibilidade de nutrientes..... 15
2.3.2.1. Nitrogênio..... 16
2.3.2.2. Fósforo..... 16
2.3.2.3. Potássio..... 17
2.3.3. Condições hídricas..... 17
2.3.4. Plantas invasoras..... 18
2.4. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA)..... 18
2.5. Aplicação de inóculos micorrízicos em plantas de milho..... 19
2.6. Ecologia de FMA..... 21
2.6.1. Colonização micorrízica..... 22
2.6.2. Proteínas do solo relacionadas à glomalina (PSRG)..... 23
2.6.3. Número de glomerosporos..... 24
2.7. Considerações gerais sobre o solo e sistemas agrícolas..... 24
2.8. Indicadores de qualidade do solo..... 27
2.8.1. Carbono da biomassa microbiana..... 27
2.8.1. Emissão de CO_2 por micro-organismos..... 28
3. MATERIAL E MÉTODOS..... 30
3.1. Área de estudo..... 30
3.2. Inoculação..... 31
3.3. Delineamento experimental..... 31
3.4. Fertilização e coletas de solo..... 32
3.5. Análises de crescimento e nutricionais das plantas..... 32
3.6. Análises micorrízicas..... 32
3.6.1. Colonização micorrízica..... 32

3.6.2. Número de glomerosporos..... 33
3.6.3. Proteínas do solo relacionadas à glomalina (PSRG)..... 33
3.7. Atividade microbiana do solo..... 33
3.7.1. Carbono da biomassa microbiana..... 33
3.7.2. Respiração microbiana..... 34
3.8. Análise dos dados..... 34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... 35
4.1. Dados biométricos e produtividade de grãos e palhada..... 35
4.2. Composição mineral das plantas..... 38
4.3. Colonização micorrízica..... 40
4.4. Número de glomerosporos..... 42
4.5. Proteínas do solo relacionadas à glomalina (PSRG)..... 43
4.6. Atividade microbiana geral do solo..... 46
5. CONCLUSÕES..... 49
6. REFERÊNCIAS..... 50

1. INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) apresenta relevante importância econômica e ambiental no Brasil, conferindo ao país destaque internacional como o terceiro maior produtor (Mapa, 2013). A produtividade do milho é influenciada por diversos fatores ambientais, tais como temperatura do ar, disponibilidade de nutrientes (com destaque para o nitrogênio, o potássio e o fósforo), condições hídricas e competição com plantas espontâneas (daninhas). Estudos recentes demonstram que a inoculação micorrízica também influencia a produtividade da cultura por incrementar o crescimento e a nutrição mineral das plantas em condições de campo (Pellegrino *et al*., 2011; Cozzolino *et al*., 2013).

Os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são importantes micro-organismos do solo e formam associação simbiótica mutualística com as raízes da maioria das plantas terrestres (Willis *et al*., 2013), caracterizada principalmente pela presença de arbúsculos, que são estruturas responsáveis pelas trocas de nutrientes entre os simbiontes. Nesse caso, o fitobionte transfere moléculas orgânicas, principalmente açúcares, para o fungo e este transfere água, sais minerais e íons para a planta.

Considerando a função de apoio na nutrição de plantas, os FMA são muitas vezes referidos como biofertilizantes. Porém, ao contrário das bactérias fixadoras de nitrogênio, não contribuem com novos nutrientes minerais, portanto, são melhor denominados como "biorealçadores" do desempenho da planta (Pellegrino *et al*., 2012).

Entre os benefícios promovidos pelos FMA aos vegetais destacam-se: incremento no crescimento (Tian *et al*., 2013), na resistência ao ataque de fitopatógenos (Odeyemi *et al*., 2010), na tolerância a estresses hídricos (Folli-Pereira *et al*., 2012) e salinos (Lúcio *et al*., 2013) e no acúmulo de nutrientes (Guo *et al*., 2013). No entanto, a comprovação dos benefícios proporcionados pelos FMA aos vegetais é observada, geralmente, em condições de casa de vegetação e com solo esterilizado, o que deixa dúvidas sobre o sucesso da inoculação de FMA em condições de campo.

Ampliar o conhecimento sobre a introdução de espécies de FMA em condições naturais pode contribuir na busca de fungos promissores para o sucesso do estabelecimento de culturas importantes e diminuir o impacto econômico e ambiental pelo uso de fertilizantes químicos.

O uso inadequado do solo pode promover sérios problemas ambientais, com danos muitas vezes irreversíveis. Diversas áreas são abandonadas após vários cultivos em virtude

da baixa qualidade atingida pelo solo. No caso de culturas como a do milho, os problemas podem ser agravados devido ao interesse pela palhada (parte aérea da planta sem espigas, usada na alimentação de rebanhos), removida após cada ciclo (Silva *et al*., 2004). A remoção da palhada diminui a quantidade de matéria orgânica que atuaria na fertilização do solo, contribuindo para exaustão mais rápida do sistema (Silva *et al*., 2004). Estudos direcionados a diminuir o impacto no solo causado pelas práticas agrícolas são necessários a fim de garantir o uso do solo por mais tempo e de forma sustentável.

O uso combinado de inóculos micorrízicos e adubos orgânicos pode incrementar a produtividade vegetal e a fertilidade do solo (Pellegrino *et al*., 2012; Alonso *et al*., 2014). No entanto, a produção de inóculos micorrízicos no Brasil ainda é um grande desafio sendo a aplicação direcionada principalmente a estudos realizados em casa-de-vegetação (Monte Junior *et al*., 2012) ou com pequenos ensaios em campo (Souza *et al*., 2010; 2012).

Para o país, é interessante que antes de elevados esforços serem dirigidos para a produção e aplicação de inóculos em grande escala, sejam realizados estudos que verifiquem se o inóculo introduzido estabelece simbioses funcionais com as plantas garantindo o sucesso da inoculação.

O presente estudo é pioneiro no Brasil em determinar se a aplicação de inóculos micorrízicos, com e sem adubação orgânica, sob condições de campo, influencia positivamente a produtividade da cultura do milho e a atividade biológica do solo. Os objetivos gerais do projeto foram determinar a eficiência de inóculos de FMA em incrementar a produtividade da cultura do milho em solos com e sem adubação e verificar os efeitos da inoculação com FMA nos atributos biológicos do solo.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. MILHO

A planta de milho (*Zea mays* L.), pertencente à família *Gramineae/Poaceae*, caracteriza-se por ser robusta, ereta e anual. Apresenta elevado potencial produtivo, que a coloca entre as plantas com maior eficiência de uso da radiação solar. Por ser uma espécie de metabolismo C4, o milho tende a expressar elevada produtividade quando a máxima área foliar coincide com a alta disponibilidade de radiação solar. Essa condição permite a máxima fotossíntese possível, desde que não haja déficit hídrico ou deficiência de nutrientes no solo (Bergamaschi *et al*., 2004).

O cultivo de milho é possível desde o Equador até o limite das terras temperadas, e desde o nível do mar até altitudes superiores a 3.600m. Essa adaptabilidade, representada por genótipos variados, acompanha as diversas formas de utilização (Magalhães *et al*., 2002).

A partir do início da década de 1970, face ao crescimento das indústrias de rações e das atividades de criação (principalmente avicultura, suinocultura e pecuária leiteira), o consumo de milho cresceu consideravelmente, tornando essa cultura uma das mais relevantes para o Brasil (Magalhães *et al*., 2002; MAPA, 2013).

No contexto internacional, o Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, com 53,2 milhões de toneladas na safra 2009/2010. Ao lado da Argentina, está entre os países que poderão ter aumento significativo nas exportações, previstas para 5,12% na safra 2019/2020.

2.2. PRODUTIVIDADE DO MILHO

Produtividade do milho é a razão entre a quantidade produzida de biomassa e a área cultivada, sendo os resultados expressos em: kg, t ou mg por hectare, determinado pelo número de grãos por unidade de área e, em menor escala, pela massa individual dos grãos (Magalhães *et al*., 2002; Richards, 2000).

A produtividade depende do número de grãos polinizados e desenvolvidos e da quantidade de fotoassimilados disponíveis (fotossíntese). Com relação ao número de grãos, este é variável dentro e entre cultivares (Magalhães *et al*., 2002). O número de grãos potencialmente capazes de se desenvolver em uma espiga é influenciado por fatores

ambientais em que os primeiros dias após a fertilização constituem um período crítico pois, caso ocorra deficiência nutricional, estresse hídrico, menor insolação ou sombreamento em virtude de altas densidades de cultivos (espaçamento), os grãos na parte superior da espiga abortam e, apesar de fertilizados, não se desenvolvem ocasionando perda na produtividade. Assim, pode-se dizer que o potencial genético para produtividade pode ser diminuído em vários estágios do desenvolvimento (Magalhães *et al*., 2002).

2.3. FATORES QUE AFETAM A PRODUTIVIDADE DO MILHO

A planta de milho, por ser de origem tropical, exige calor e água durante o ciclo de vida e, alcançadas as exigências, a planta se desenvolve e produz satisfatoriamente.

2.3.1. Temperatura

A temperatura do ar é um fator importante no início e durante o desenvolvimento das plantas, pois o rendimento da cultura pode ser reduzido caso ocorram valores de temperatura acima de 35 °C durante a formação do grão (Almeida, 2007). As temperaturas ótimas para crescimento do milho estão entre 25 e 30 °C, e as mínimas, entre 6 e 8 °C. Baixas temperaturas no plantio geralmente restringem a absorção de nutrientes do solo e provocam lentidão no crescimento (Magalhães *et al*., 2002) influenciando diretamente o desenvolvimento fenológico das plantas. Locais ou períodos mais quentes determinam desenvolvimento vegetal mais rápido. Portanto, em regiões ou mesmo em épocas mais quentes há maior precocidade no desenvolvimento das plantas (Almeida, 2007).

De acordo com Lozada & Angelocci (1999), a temperatura é o elemento meteorológico que melhor explica a duração dos períodos de desenvolvimento da cultura, havendo sempre relação linear entre a duração destes e o desenvolvimento da planta. Para os processos de germinação e emergência, a temperatura do solo mais adequada deve estar entre 25 e 30 °C; temperaturas inferiores a 10 °C e superiores a 42 °C afetam negativamente a germinação (Almeida, 2007).

2.3.2. Disponibilidade de nutrientes

O acesso a nutrientes pelas plantas é fundamental para o ótimo crescimento e desenvolvimento da cultura. Entre os nutrientes mais requisitados estão o nitrogênio (N), o fósforo (P) e o potássio (K).

2.3.2.1. Nitrogênio

O N desempenha papel relevante no metabolismo vegetal por participar diretamente da biossíntese de proteínas e clorofilas (Ta & Weiland, 1992). Porém, encontra-se em quantidades insuficientes na maioria dos solos brasileiros, o que torna necessário um fornecimento exógeno deste elemento em concentração adequada (Deuner *et al*., 2008). No Brasil, a quantidade média usada na cultura de milho é 60 Kg ha^{-1}, valor inferior à aplicada nos Estados Unidos (150 Kg ha^{-1}) e na China (130 Kg^{-1}), principais produtores dessa cultura (Pavinato *et al*., 2008). Em plantas de milho há uma intensa absorção de N nas fases iniciais de desenvolvimento, sendo a deficiência deste macronutriente uma das maiores limitações da produtividade (Pavinato *et al*., 2008). Segundo Ta & Weiland (1992), o N absorvido nos estágios iniciais participa principalmente em funções estruturais na planta, sendo pouco armazenado e translocado. Deficiência de N retarda a divisão celular nos pontos de crescimento do milho, acarretando diminuição na área foliar e no tamanho da planta, o que se traduz em reflexos negativos sobre a produção. Além disso, o N é o elemento mais absorvido pela planta de milho e o que mais exerce influência sobre o rendimento de grãos, de modo que o aumento da produtividade de grãos depende, entre outros fatores, da eficiência na absorção de N e sua translocação para os grãos em crescimento, onde ocorrerá a formação de compostos de reserva (Deuner *et al*., 2008).

2.3.2.2. Fósforo

O P é um elemento essencial para o crescimento das plantas, uma vez que está envolvido na maioria dos processos bioquímicos importantes (Cozzolino *et al*., 2013). Juntamente com o nitrogênio e o potássio, é considerado um dos três nutrientes primários. O fósforo apresenta papel imprescindível na produção de energia (ATP) para o funcionamento das células, sendo assimilado pelas plantas como íons fosfato. Por sua vez, as plantas o incorporam diretamente em compostos orgânicos. A disponibilidade desse nutriente para as plantas é afetada pela acidez do solo. Em solos ácidos, o fósforo se liga fortemente às partículas de argila, formando compostos relativamente insolúveis com o

ferro e o alumínio. Em solos básicos, o fósforo forma outros compostos insolúveis com o cálcio. A maior disponibilidade do fósforo ocorre em pH entre 6 e 7.

A pouca disponibilidade do fósforo é motivo para frequentes aplicações de fertilizantes em solos agrícolas, o que eleva o custo de produção (Reis *et al*., 2008). Portanto, aumentar a eficiência de utilização de P na agricultura é necessário para reduzir os impactos ambientais e o custo de produção. Estudos recentes indicam que o uso de inóculos micorrízicos é viável para diminuir grandes aplicações de P em plantio de milho no campo (Cozzolino *et al*., 2013).

2.3.2.3. Potássio

O K é o nutriente mais absorvido pelo milho após o N e realiza importantes funções metabólicas na planta, por exemplo: a) é vital na relação água-planta; b) ajuda a manter a pressão interna das células; c) está envolvido na produção de frutos mais suculentos. O sistema radicular de plantas deficientes em potássio é menos profundo e pouco desenvolvido, o que prejudica a absorção de água e nutrientes. O potássio também possui papel importante nas reações enzimáticas, no metabolismo dos carboidratos e proteínas, na translocação do açúcar e do amido e na divisão celular (Deparis, 2006). De acordo com o mesmo autor, as respostas do milho ao K são: precocidade no aparecimento da inflorescência feminina, uniformidade de maturação, resistência do colmo e maior peso de grãos. Muitos estudos avaliando o efeito da adubação potássica na cultura do milho demonstram a importância desse nutriente para ganhos de produtividade (Deparis, 2006; Pavinato *et al*., 2008).

2.3.3. Condições hídricas

O milho pode ser cultivado em regiões cuja precipitação pluviométrica varia de 300 a 5.000 mm anuais; no entanto, a quantidade de água exigida pela planta está em torno de 600 mm (Magalhães *et al*., 2002). Dentro dessa margem, a planta manifesta seu potencial produtivo sem a necessidade do uso de irrigação (Almeida, 2007).

As fases mais sensíveis ao déficit hídrico são: a) a iniciação floral e desenvolvimento da inflorescência, quando o número potencial de grãos é determinado; b) a fertilização dos grãos, quando o potencial de produção é estabelecido; c) a fase do enchimento de grãos, quando ocorre o aumento na deposição de matéria seca (Magalhães

et al., 1995; Figueredo Júnior, 2004). O déficit de água resulta em colmos mais finos, plantas de menor porte e menor área foliar (Magalhães *et al*., 2002).

Apesar do alto requerimento de água, a planta de milho é eficiente na sua conversão para matéria seca (Magalhães *et al*., 2002). Assim, irrigações durante o período crítico permitem elevada produtividade de grãos ainda que a umidade do solo seja mantida abaixo da capacidade de campo (Almeida, 2007).

2.3.4. Plantas invasoras (espontâneas, daninhas)

A redução na produtividade do milho devido à competição com plantas invasoras pode alcançar até 70%, dependendo da espécie e grau de infestação das invasoras, tipo de solo, condições climáticas, espaçamento, variedade e estádio fenológico da cultura de milho relacionada à convivência com as invasoras (Fancelli & Dourado Neto, 2000).

2.4. Fungos micorrízicos arbusculares (FMA)

Com a crescente preocupação da degradação ambiental e produção de alimentos, fontes orgânicas que maximizem a produtividade vegetal, sem comprometer a qualidade do solo tem despertado grande interesse, e neste sentido, o uso de fungos micorrízicos arbusculares (FMA) na agricultura tem tido destaque. Vários estudos demostram a importância e a eficácia da inoculação com FMA nas plantas do milho (Pellegrino *et al*., 2011; Cozzolino *et al*., 2013).

Os FMA são os principais micro-organismos do solo e formam associações simbióticas mutualísticas, denominadas micorrizas arbusculares, com as raízes da maioria das plantas terrestres (Folli-Pereira *et al*., 2012), apresentando importante papel na estruturação e no funcionamento dos ecossistemas terrestres.

A associação é caracterizada principalmente pela presença de arbúsculos, estruturas responsáveis pela troca de nutrientes entre os simbiontes. Nesse caso, o fitobionte transfere moléculas orgânicas para o fungo, principalmente, açúcares e o fungo transfere moléculas de água, sais minerais e íons para a planta. Os FMA também formam outras estruturas como vesículas, esporos, células auxiliares e micélio extra-radicular, que atua como complemento da raiz, ampliando a ocupação do solo e a absorção de nutrientes (Willis *et al*., 2013). Considerando sua função de apoio na nutrição de plantas, os FMA são muitas vezes referidos como biofertilizantes; porém, ao contrário das bactérias fixadoras de

nitrogênio, não contribuem com novos nutrientes minerais sendo, portanto, melhor denominados "biorealçadores" do desempenho da planta (Pellegrino *et al*., 2012).

Os FMA pertencem ao Filo Glomeromycota e apresentam outras características peculiares: são biotróficos obrigatórios e produzem uma glicoproteína (glomalina) que além de auxiliar na retenção de umidade e na agregação do solo é depósito de carbono para a microbiota edáfica (Rillig *et al*., 2004). Entre os benefícios promovidos pelos FMA aos vegetais destacam-se: incremento no crescimento (Tian *et al*., 2013), no acúmulo de nutrientes (Guo *et al*., 2013); na resistência ao ataque de fitopatógenos (Odeyemi *et al*., 2010) e na tolerância a estresses hídricos (Folli-Pereira *et al*., 2012) e salinos (Lúcio *et al*., 2013). De acordo com Alonso *et al*. (2014), os FMA também podem proporcionar redução nos custos de produção pois, ao aumentarem a absorção de nutrientes pelas plantas, reduzem os gastos com fertilizantes.

A inoculação com FMA tem gerado interesse ambiental e agrícola. Várias espécies têm sido testadas com o intuito de melhorar a eficiência da absorção de nutrientes pelas plantas, como em mudas de cafeeiro (Balota & Lopes, 1996), mamoeiro (Trindade *et al*., 2000), gravioleira (Silva *et al*., 2008) e meloeiro (Lúcio *et al*., 2013). Também há estudos de inoculação com FMA em mudas de espécies arbóreas nativas destinadas ao reflorestamento de áreas impactadas (Vandresen *et al*., 2007; Silva *et al*., 2009) e ao estabelecimento de mudas, incluindo micropropagadas (Oliveira *et al*., 2010).

A produção de inóculos micorrízicos pode ser feita em vasos em casa de vegetação sob condições controladas adotando susbtratos que estimulem a esporulação do fungo e espécies vegetais de rápido crescimento responsivos à micorrização. Estudo demonstra que a obtenção de isolados eficientes em promover o crescimento vegetal pode ser alcançada quando o fungo é multiplicado na condição edáfica em que será introduzido (Silva, 2006).

2.5. Aplicação de inóculos micorrízicos em plantas de milho

A maioria dos benefícios proporcionados pelos FMA aos vegetais tem sido comprovada em casa de vegetação, com solo esterilizado, o que deixa dúvidas sobre o sucesso ou fracasso de inóculos de FMA em condições reais de campo. Ampliar o conhecimento sobre a introdução de espécies de FMA em condições naturais pode contribuir na busca de fungos promissores para o sucesso no estabelecimento de culturas de interesse econômico e também diminuir o impacto causado pelas práticas agrícolas ao

solo, já que esses fungos são benéficos para a fertilidade natural do solo e desempenham funções importantes nos ecossistemas agrícolas (Cozzolino *et al*., 2013).

A introdução de FMA no campo tem como objetivo fazer com que a planta tenha maiores chances de ser colonizada e, consequentemente, tornar-se mais eficiente em aproveitar os recursos edáficos disponíveis em comparação com as plantas que não foram inoculadas com FMA. Deve-se também considerar que o potencial micorrízico nativo do solo de sistemas agrícolas pode ser insuficiente em quantidade e qualidade (Koide & Mosse, 2004), resultando em baixa contribuição dos fungos para o desenvolvimento satisfatório das plantas. Assim, o objetivo da inoculação também é promover o aumento da infectividade do solo por FMA.

Em algumas culturas, como a do milho, a utilização da palhada (parte aérea da planta) para alimentação de rebanhos promove a remoção de praticamente toda a planta, o que diminui a quantidade de matéria orgânica que atuaria na fertilização do solo, resultando em exaustão mais rápida do solo (Silva *et al*., 2004).

Nesse caso, a prática de inoculação com FMA pode trazer significativa contribuição para o sistema solo-planta. Cozzolino *et al*. (2013), por exemplo, avaliando os efeitos da aplicação de inóculo micorrízico comercial (composto por *Glomus intraradices*) no crescimento de plantas de milho em campo e na disponibilidade de P no solo, observaram efeito positivo da inoculação, concluindo que ações que incluem inóculos de FMA podem representar um modo sustentável de aumentar a produtividade da cultura e a fertilidade do solo. Outros estudos de inoculação com FMA em plantas de milho demonstraram o importante papel desempenhado por esses fungos na promoção do crescimento da planta (Campos *et al*., 2010), na aquisição de nutrientes e na tolerância das plantas à toxidade de metais pesados (Guo *et al*., 2013). Estudando a influência da inoculação com *Glomus etunicatum* em vários genótipos de milho, Reis *et al*. (2008) observaram que a inoculação foi efetiva na produção de raízes em ambientes com restrição de P.

Para que os resultados positivos sejam alcançados, é desejável que o inóculo seja eficiente não só em aumentar o teor de nutrientes e o desenvolvimento da planta, mas em produzir alta biomassa no solo (Rillig *et al*., 2004). Em virtude do comportamento diferenciado de isolados de FMA sob diferentes condições ambientais, seleção prévia de inoculante deve ser realizada antes da recomendação para a aplicação na agricultura (Silva, 2006).

Assim que o isolado eficiente é selecionado, pode ser introduzido em condições de campo. Pellegrino *et al*. (2012), avaliando o estabelecimento, eficiência e a persistência de fungos exóticos como simbiontes radiculares em leguminosa, observaram que os isolados foram eficientes competidores em comparação aos membros da comunidade natural de FMA, e que persistiram no solo mesmo após dois anos da aplicação. Concluíram também que a cultura teve o crescimento e a absorção de nutrientes minerais estimulados, mesmo após dois anos da inoculação. Outros estudos demonstram o sucesso de inóculos micorrízicos em persistir no campo, como constatado por Balota & Lopes (1996) que avaliaram a persistência da *Gigaspora margarita* introduzida no campo por meio de mudas de cafeeiro após cinco anos da aplicação. Esses resultados confirmam que o incremento na produtividade da cultura e a persistência do fungo exótico entre os membros nativos já justifica qualquer investimento na aplicação de inóculos micorrízicos em culturas de interesse econômico (Pellegrino *et al*., 2012).

Uma das limitações da introdução de FMA em campo é a carência de informações sobre o seu estabelecimento, persistência e disseminação no solo. No entanto, cada vez mais estudos que envolvem técnicas moleculares estão sendo publicados, ampliando o conhecimento sobre a interação entre fungos exóticos e nativos em condições naturais (Azevedo, 2010; Pellegrino *et al*., 2012). Estudos em campo que abrangem inoculação em vegetais que não passam por fase de viveiro, como é o caso do milho, são poucos, o que dificulta uma análise comparativa do comportamento do fungo em diversos sistemas. Por outro lado, a ocorrência de fungos micorrízicos nativos em plantas de milho é bem documentada (Bezerra *et al*., 2010; Tian *et al*., 2013).

A produção de inóculos micorrízicos no Brasil ainda é um grande desafio. A produção e aplicação são direcionadas a estudos realizados em casa de vegetação ou com pequenos ensaios em campo. Para o país, é interessante que antes de direcionar elevados esforços para a produção e aplicação de inóculos em grande escala, sejam realizados estudos que verifiquem se o inóculo introduzido estabelece simbioses funcionais com as plantas, especialmente, no semiárido nordestino, frequentemente castigado pelas secas e tem solos pobres em nutrientes (Galvão *et al*., 2008).

2.6. Ecologia de FMA

Levando em consideração a importância ecológica dos FMA na construção e na estabilidade dos ecossistemas terrestres, dados referentes à sua comunidade, como 1)

diversidade; 2) colonização, 3) atividade e 4) infectividade muitas vezes são mais eficientes em evidenciar efeitos de mudança de cobertura vegetal, manejos e diferenças entre solos que outras variáveis biológicas (Angelini *et al*., 2012).

2.6.1. Colonização micorrízica

A colonização consiste no estabelecimento do FMA entre e dentro das células do córtex da raiz, com a formação de arbúsculos. A colonização micorrízica é o ponto chave da simbiose e pode ser afetada por inúmeros fatores, como a espécie e a idade do vegetal, a densidade de raízes e de propágulos de FMA no solo, a quantidade e tipo de adubo aplicado e o manejo adotado (Martinez *et al*., 2010; Angelini *et al*., 2012). Estudos demonstram que há tendência de a adubação fosfatada diminuir a colonização micorrízica em culturas de café (Balota & Lopes,1996) e que o plantio direto favorece mais a ocorrência da colonização que o plantio convencional (Schneider *et al*., 2011). No entanto, há estudos com respostas contrárias, como observado por Angelini *et al*. (2012) os quais relataram que, independente do sistema de plantio adotado (convencional ou direto) adotado para o cultivo do milho, a colonização por FMA pode ser alta (superior a 90%), estando este resultado associado à maior eficiência fotossintética das gramíneas que investem fotossintatos na simbiose arbuscular e obtêm maior teor de P (Cordeiro *et al*., 2005).

As maiores taxas de colonização nem sempre retratam maior efetividade. Esta, por sua vez, está relacionada aos benefícios adquiridos pelo vegetal com a presença do micobionte, tais como maior crescimento, produtividade e absorção de nutrientes. Por outro lado, a colonização pode contribuir na manutenção de propágulos de FMA no solo aumentando, sobretudo, as chances de permanência do fungo no solo.

Uma das vantagens da colonização micorrízica é proporcionar à planta acesso a nutrientes de baixa mobilidade no solo, como, o fósforo. A interação entre FMA e P em plantas de milho tem sido amplamente investigada. Costa *et al*. (2002) observaram maior colonização em plantas de milho inoculadas com FMA que plantas não inoculadas. Também observaram que as plantas inoculadas apresentaram aumentos pronunciados de P (quando a fonte de P era solúvel), K e N (quando a fonte de P era pouco solúvel). Resultados semelhantes foram relatados por Trindade *et al*. (2000), os quais observaram que os teores de P na parte aérea foram superiores em mamoeiros colonizados e que o efeito do FMA foi mais pronunciado quando os teores de P no substrato eram baixos. Em

relação ao teor de N, os autores não verificaram efeito da inoculação. Guo *et al*. (2013) relataram que a eficiência na utilização de P pelas plantas micorrizadas depende da espécie de FMA e do solo onde as plantas são estabelecidas. De modo geral, com maior disponibilidade de nutrientes as plantas necessitam menos da associação e podem não aceitar ou não facilitar a colonização pelos FMA, evitando, assim, competição por fotoassimilados com os micobiontes (Graham & Eissenstat, 1994).

A colonização micorrízica pode ser beneficiada pela presença de esterco no substrato, considerando que a matéria orgânica estimula o crescimento e a ramificação das hifas do fungo devido à formação de um nicho fisiológico mais adequado para o seu crescimento (Trindade *et al*., 2000).

2.6.2. Proteínas do solo relacionadas à glomalina (PSRG)

A atividade dos FMA pode ser mensurada pela quantificação de uma glicoproteína denominada glomalina (Folli-Pereira *et al*., 2012), considerada a maior fonte de carbono da matéria orgânica do solo, função antes atribuída aos ácidos húmicos (Wright & Nichols, 2002).

Os métodos usados na extração da glomalina não são eficazes em extrair somente essa glicoproteína, o que levou à mudança do termo "glomalina" para "proteínas do solo relacionadas à glomalina" sugerida por Rillig *et al*. (2004).

A glomalina proporciona maior retenção de água, favorece a aeração e promove maior agregação das partículas do solo, o que evita a perda de nutrientes para as camadas mais profundas. Essas melhorias afetam o crescimento das plantas e a estruturação do ecossistema (Rillig *et al*., 2004). A glomalina também cumpre funções fisiológicas no fungo, favorecendo a aderência das hifas na superfície, reduzindo a palatabilidade das hifas e contribuindo para imobilização de poluentes (Rillig *et al*., 2001; Souza *et al*., 2012).

A produção da glomalina depende dos fatores do solo e da espécie de FMA (Silva, 2006). O revolvimento do solo, prática adotada em sistemas de cultivo convencional, também afeta negativamente a produção da glomalina pelos FMA, uma vez que a movimentação do solo destroça as hifas produtoras dessa glicoproteína (Sousa *et al*., 2012).

As concentrações de PSRG registradas em áreas do semiárido nordestino têm sido menores que 1,5 mg por grama de solo (Cardoso Júnior, 2010; Sousa *et al*., 2011). Pelo fato de o solo estar sob altas temperaturas (média de 27 °C), regimes hídricos irregulares

(200 a 800 mm/ano), e apresentar, em geral, baixa fertilidade (Galvão *et al*., 2008), é possível que os FMA tenham sua atividade reduzida, resultando em menores produções de glomalina. Também é possível que a microbiota utilize a glomalina como fonte de energia em virtude da baixa fertilidade natural do solo, o que impede seu acúmulo no ambiente. Em plantios de milho com feijão, Sousa *et al*. (2013) observaram que os teores de PSRG foram inferiores a 1,0 mg por g de solo.

Estudos que abordem a dinâmica da glomalina nos solos são importantes para esclarecer de que forma as práticas e manejos adotados influenciam a comunidade de FMA e principalmente a atividade dos micro-organismos do solo, responsáveis por inúmeras atividades relacionadas à manutenção e funcionamento dos ecossistemas terrestres (Singh *et al*., 2013)

2.6.3. Número de glomerosporos

Os FMA são encontrados facilmente no solo na forma de esporos denominados "glomerosporos" e vários estudos já comprovaram sua distribuição não uniforme no solo (Carrenho *et al*., 2001; Costa *et al*., 2002). Estudos recentes em cultura de milho sob sistema convencional registraram média de 300 glomerosporos em 50g de solo (Angelini *et al*., 2012). Os autores relataram que vegetais com raízes fasciculadas, como é o caso das gramíneas, favorecem a esporulação dos FMA no solo por serem abundantes, de rápido crescimento e possuírem grande capacidade de fornecer fotossintatos ao fungo. Além disso, a exsudação de compostos bioativos pelas raízes estimula a germinação e o crescimento micelial, favorecendo a colonização e o número de glomerosporos (Siqueira & Klauberg-Filho, 2000).

Embora o esporo signifique a presença do fungo no solo, não há necessariamente correlação entre o número de esporos e a taxa de colonização, o que pode ser explicado pela necessidade de um espaço de tempo da esporulação até a formação da micorriza (Moreira & Siqueira, 2002). Neste caso, é muito provável que o fungo esteja no solo na forma de propágulos tipo hifas (micélio), o que impossibilita sua quantificação na forma de glomerosporos e sua detecção dentro das raízes.

2.7. Considerações gerais sobre o solo e sistemas agrícolas

O solo é um recurso natural, esgotável e dinâmico, constituindo habitat complexo e de natureza heterogênea, sendo formado por cinco constituintes fundamentais: material mineral (areia, silte e argila), gasoso (gases da atmosfera em diferentes proporções), líquido (água, ácidos, bases, etc), compostos orgânicos (matéria orgânica em vários estágios de decomposição) e biológicos (micro-organismos e invertebrados) (Moreira & Siqueira, 2002). A quantidade desses constituintes varia com o tipo de solo, mas em geral, a fase sólida tem maior representatividade, cerca de 45%, do volume total (Moreira & Siqueira, 2002).

No contexto biológico, os principais constituintes são bactérias, fungos, vírus, protozoários e pequenos invertebrados (Moreira & Siqueira, 2002). Esses organismos compreendem menos de 1% do volume total e são indispensáveis para o funcionamento e produtividade dos ambientes naturais e manejados. Muitas das propriedades do solo são decorrentes das atividades biológicas (Cunha *et al*., 2011).

Entre as várias funções desempenhadas pelo solo, destacam-se: a) a regulação da água no ambiente; b) o suporte para o crescimento das plantas e da microbiota edáfica; c) a participação nas trocas gasosas e na atividade biológica (Moreira & Siqueira, 2002). Além disso, o solo é reservatório de elementos essenciais como nitrogênio, carbono e fósforo (Galvão *et al*., 2008). A capacidade do solo de desempenhar todas essas funções está direta ou indiretamente ligada à sua qualidade, de forma que assegure a produção de alimentos e outros insumos para a sustentação da população humana (Araújo & Monteiro, 2007).

O uso inadequado deste recurso natural promove sérios problemas ambientais, com danos muitas vezes irreversíveis. Entre as práticas de uso do solo estão ciclos de monoculturas sem manejo adequado, causando mudanças nos atributos do solo que vão desde seleção de micro-organismos, diminuindo a biodiversidade local, à lentidão na reciclagem dos elementos químicos, esgotamento de nutrientes essenciais para o desenvolvimento da cultura e depósito de exsudados pouco diversos (Araújo & Monteiro, 2007; Loss *et al.*, 2011). Muitas áreas, inclusive, são abandonadas após vários cultivos em virtude da baixa qualidade atingida pelo solo (Silva *et al*., 2004).

Manejos conservacionistas que favorecem os processos bioquímicos do solo resultantes da atividade microbiana nem sempre são adotados, o que pode comprometer o uso do solo no futuro. O manejo conservacionista mais adotado no Brasil é o sistema de plantio direto (Loss *et al*., 2011), também denominado sistema de semeadura direta na palha, que se baseia na rotação de culturas e no uso de plantas de cobertura (gramíneas e leguminosas) que atuam na manutenção e no aumento de teores de carbono e nitrogênio no

solo (Loss *et al*., 2011). O não revolvimento do solo observado neste sistema também favorece a biodiversidade, a porosidade e a proliferação de inimigos naturais de pragas (Cunha *et al*., 2011; Angellini *et al*., 2012). Ao contrário do plantio direto, o sistema de preparo convencional apresenta, além do revolvimento do solo, processo que desestabiliza a estrutura e o funcionamento da comunidade microbiana, a retirada de toda a planta, o que reduz a incorporação de matéria orgânica que seria fonte de energia e de nutrientes para a manutenção e estímulo da microbiota. Esse tipo de sistema é o mais adotado no semiárido nordestino. Por isso, estudos direcionados a diminuir o impacto no solo causado pelas práticas agrícolas são necessários, garantindo o seu uso por mais tempo e/ou de forma sustentável.

Na busca da sustentabilidade nos ecossistemas agrícolas, vários adubos são usados como fonte de matéria orgânica, sendo os benefícios dependentes do tipo e da dose empregada (Sartor *et al*., 2012; Alonso *et al*., 2014). Entre os compostos orgânicos usados na agricultura destacam-se o esterco suíno, eqüino e ovino, a cama de aves e principalmente o esterco bovino, capaz de aumentar o rendimento de grãos e a parte aérea do milho (Silva *et al*., 2004).

O esterco animal é o principal adubo orgânico usado para melhorar a fertilidade dos solos do semiárido nordestino. No entanto, a quantidade disponível nas propriedades agrícolas é, de modo geral, insuficiente para suprir a demanda das culturas (Silva *et al*., 2007; Sousa *et al*., 2013). Além disso, se o esterco usado for de baixa qualidade e/ou não curtido (fresco), pode haver a imobilização de nutrientes do solo resultando, em limitações no crescimento e na produtividade das espécies vegetais (Silva *et al*., 2007; Mundus *et al*., 2008).

Estudos comprovam que plantas cultivadas em solos adubados desenvolvem-se melhor que plantas que carecem de uma fonte adicional de nutrientes e que é comum solos adubados apresentarem alta atividade biológica, resultante dos micro-organismos contidos no adubo e dos que se encontravam no solo (Silva *et al*., 2008; Alonso *et al*., 2014). No entanto, os efeitos do adubo sobre a atividade da microbiota do solo nem sempre são positivos; no caso dos FMA, pode haver diminuição da atividade em função do alto teor de composto orgânico no solo (Cruz & Martins, 1998).

A contribuição dos FMA na atividade biológica geral do solo é resultado de ações diretas e/ou indiretas, executadas pelo fungo. Indiretamente, a partir do momento que contribuem na captação e transferência de nutrientes para as plantas, que por sua vez, se desenvolvem mais adequadamente e alocam compostos secundários para a raiz, que

servem de estímulo e influenciam a atividade dos micro-organismos do solo; e, diretamente, quando servem de fonte e depósito de carbono para a microbiota e atuam na agregação e estruturação do solo (Rillig *et al*., 2004; Folli-Pereira *et al*., 2012).

Os efeitos dos manejos e das práticas agrícolas no funcionamento dos micro-organismos do solo e no estado nutricional das plantas podem ser detectados, respectivamente, por meio de indicadores biológicos de qualidade do solo e de análise quantitativa dos principais macronutrientes da fitomassa. No caso dos vegetais, parâmetros de crescimento como altura, diâmetro do caule, número de folhas, área foliar, quantidade e volume de frutos também podem ser considerados.

2.8. Indicadores de qualidade do solo

Vários parâmetros podem indicar alterações na qualidade do solo, que pode ser definida como "a capacidade do solo de funcionar dentro dos limites do ecossistema para sustentar a atividade biológica, manter a qualidade ambiental e promover a saúde vegetal e animal" (Doran & Parkin, 1994). Entre esses parâmetros destacam-se os indicadores microbiológicos e bioquímicos, mais sensíveis a variações ambientais e condições de uso do solo que as propriedades químicas e físicas (Paz-Ferreiro *et al*., 2010).

Os indicadores de qualidade fornecem informações importantes sobre o desempenho de funções-chave do solo, o que auxilia na decisão de qual atividade deve ser adotada para a sua recuperação ou conservação. Entre os diversos indicadores biológicos destacam-se o carbono da biomassa microbiana e a taxa respiratória dos micro-organismos (Bezerra *et al*., 2010; Laurente *et al*., 2011).

2.8.1. Carbono da biomassa microbiana (CBM)

A biomassa microbiana do solo é o componente vivo da matéria orgânica, responsável por muitas funções do solo e que participa efetivamente de importantes processos no sistema solo-planta (Cunha *et al*., 2011). A avaliação da biomassa microbiana fornece informações sobre mudanças nas propriedades orgânicas do solo causadas por cultivos ou por devastação de florestas, regeneração dos solos e efeitos de poluentes e metais pesados (Gama-Rodrigues *et al*., 2008; Silva *et al*., 2009). Os métodos mais utilizados na determinação da biomassa microbiana são a fumigação-incubação (Jenkinson

& Powlson, 1976), a fumigação-extração (Vance *et al*., 1987) e irradiação com micro-ondas e extração (Islam & Weil, 1998).

Várias pesquisas foram realizadas avaliando a biomassa microbiana do solo sob diferentes coberturas vegetais (Gama-Rodrigues *et al*., 2008), comparando sistemas naturais e agrícolas (Silva *et al*., 2010) e sistemas de florestas plantadas (Chaér & Tótola, 2007). Em plantios de milho sob sistema convencional, Cunha *et al*. (2011) registraram médias de 142 a 262 mg de CBM por kg de solo, concentrações inferiores às observadas em plantios de mesma cultura sob sistema direto. Valores próximos aos detectados nesse estudo foram observados por Nunes *et al*. (2009) em plantios de milho no semiárido nordestino. Os autores registraram concentrações de 150 a 200 mg de CBM por kg de solo. Em relação à influência da inoculação com FMA no CBM em solo não esterilizado, Vilela (2012) observou efeito positivo, sugerindo que há efeito sinérgico entre o fungo introduzido, os nativos e demais micro-organismos do solo.

2.8.2. Emissões de CO_2 pelos micro-organismos

A respiração microbiana do solo demonstra a capacidade metabólica dos micro-organismos em degradar compostos orgânicos em condições aeróbicas (Moreira & Siqueira, 2002). A taxa respiratória pode ser avaliada tanto pelo consumo de O_2 como pela liberação de dióxido de carbono (CO_2). Neste último caso, o carbono pode ser adsorvido por uma solução básica (KOH ou NaOH) e depois titulado com HCl (Grisi, 1978). Fatores ambientais como umidade, temperatura e disponibilidade de nutrientes afetam a emissão de CO_2 por influenciarem a atividade da microbiota responsável pela produção deste gás (Moreira & Siqueira, 2002).

A atividade dos micro-organismos, observada pela respiração, é considerada um atributo positivo para a qualidade do solo. No entanto, a interpretação dos resultados deve ser realizada com cautela, pois, elevada emissão de CO_2 tanto pode refletir alta oxidação da matéria orgânica associada à alta atividade como pode significar perda de carbono do solo e redução desse elemento no sistema (Laurente *et al*., 2011).

Em solos com adição de adubo a emissão de CO_2 pode ser maximizada em virtude da presença de micro-organismos aderidos ao composto orgânico (Silva *et al.*, 2008); além disso, o melhor desenvolvimento dos vegetais em tais solos resulta em maior variedade e quantidade de exsudados que servem de estímulo para ação dos micro-organismos (Singh *et al*., 2013). Porém, a mudança de fertilidade do solo nem sempre é detectada pela

respiração microbiana. Estudando a influência de plantas de cobertura como fonte de matéria orgânica na respiração do solo, Cunha *et al*. (2012) não observaram diferenças significativas entre os tratamentos de pousio e com plantas de cobertura, tanto na camada de 0–0,10 m como na de 0,10–0,20 m do solo, estando a cultura de milho sob preparo convencional ou semeadura direta. Com relação à influência da inoculação com FMA no desprendimento de CO_2 do solo, Silva (2009) verificou que a inoculação com *Glomus clarum* em solo proveniente de plantio de milho, rotacionado com soja e sorgo, influenciou positivamente a respiração microbiana, verificando o efeito indireto proporcionado pelo fungo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

Os experimentos foram conduzidos na Fazenda Riacho do Papagaio, localizada no município de São João, Agreste meridional de Pernambuco (8°52`32`”Latitude, 36°22`00” Longitude), em regime de sequeiro, em 2012 e 2013. Os dados de precipitação pluviométrica desses anos encontram-se na tabela 1. O clima da região é do tipo As`, segundo a classificação de Köppen, que o caracteriza como quente e úmido.

Tabela 1. Precipitação pluviométrica mensal e acumulada nos anos de 2012 e 2013 no município de São João, PE.

Anos	Meses												Acumulado (mm)
	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	
2012	15,2	14,0	19,0	18,0	53,0	57,5	73,0	70,7	15,0	11,0	0,0	0,0	346,4
2013	12,5	0,0	3,6	70,0	53,1	111,5	137,9	64,4	15,6	44,0	27,0	0,0	539,6

Fonte: IPA (Instituto Agronômico de Pernambuco)

A área experimental teve plantios de cafeeiro no período de 1960 a 2000, culturas de subsistência (feijão, mandioca) de 2001 a 2010 e em 2011 o solo encontrava-se em pousio. Em 2012, na implantação do experimento, o solo foi amostrado na camada de 0-20 cm para caracterização química (Tabela 2).

Tabela 2. Fertilidade inicial do solo da área experimental do município de São João, PE.

Profundidade do solo	P	pH	Na	K^+	Ca^{+2}	Mg^{+2}	Al^{+3}	H+Al	C.O.[(1)]
(cm)	(mg/dm^3)	H_2O 1:2,5	($Cmol_c/dm^3$)						($g\ kg^{-1}$)
0-20	24	5,4	0,04	0,23	1,0	0,7	0	2,93	14

[(1)]C.O.: carbono orgânico

3.2. Inoculação

Foram utilizados inóculos de três isolados de FMA, fornecidos pelo Laboratório de Micorrizas/Departamento de Micologia-UFPE e produzidos sob as seguintes condições: a) *Acaulospora longula* URM-FMA 07 e b) *Claroideoglomus etunicatum* UNIVASF 06 A, multiplicados em canteiro a céu aberto em substrato composto por: areia (60%), argila (35%), bagaço de cana (2,5%) e resíduo de leucena (2,5%), tendo o *Sorghum bicolor* como planta hospedeira; c) *Acaulospora longula* URM FMA 03, produzido em casa de vegetação, em pote com solo em associação com *S. bicolor*, *Zea mays* e *Brachiaria decumbens*. No primeiro ano agrícola foi introduzido solo-inóculo com cerca de 300 esporos por cova; no segundo ano foram inoculados cerca de 400 esporos por cova, de acordo com os tratamentos (Tabela 3).

3.3. Delineamento experimental

O delineamento experimental em campo foi em blocos ao acaso com quatro repetições em arranjo fatorial 4 x 2: quatro tratamentos de inoculação (*A. longula* URM-FMA 07, *A. longula* URM-FMA 03, *C. etunicatum* UNIVASF 06-A e um controle, FMA nativos) e dois de adubação (com e sem esterco bovino maturado). Foram demarcados quatro blocos divididos em oito parcelas de 4,0 x 4,0 m, com área útil de 4,0 m^2 levando em consideração 0,5 m de bordadura das extremidades das parcelas experimentais. Cada parcela foi constituída por quatro linhas (de 4 m) espaçadas 1,0 entre si. O espaçamento entre plantas foi de 0,5 m. As linhas de número 2 e 3 foram utilizadas para a coleta de plantas para avaliação de parâmetros de crescimento, nutricionais e colonização micorrízica. Nas covas para a semeadura direta do milho foram colocadas manualmente três sementes. Ao atingirem o estágio V3 (três folhas totalmente expandidas), duas plantas foram desbastadas, totalizando a densidade de 20.000 plantas ha^{-1}.

Tabela 3. Tratamentos distribuídos aleatoriamente em cada bloco

T1	solo adubado+ A. *longula* URM FMA 07
T2	solo adubado+ A. *longula* URM FMA 03
T3	solo adubado+ *G. etunicatum* UNIVASF 06 A
T4	solo adubado e sem inóculo (FMA nativos)
T5	solo + *A. longula* URM FMA 07

T6	solo + *A. longula* URM FMA 03
T7	solo + *G. etunicatum* UNIVASF 06 A
T8	solo e sem inóculo (FMA nativos)

3.4. Fertilização e coletas do solo

Foi aplicado esterco bovino maturado (24 Kg aplicados a lanço/ parcela) nos quatro primeiros tratamentos em cada ano, o que equivale a 15.000 Kg de adubo/ha. Para cada experimento foram realizadas duas coletas de solo: uma no início e outra no final, sendo uma amostra composta (cinco sub amostras) de solo por parcela, totalizando 32 amostras por coleta. A duração de cada experimento foi de 120 dias (de junho a outubro em 2012 e de maio a setembro em 2013). O controle das plantas daninhas e dos insetos foi realizado, respectivamente, com auxílio de enxada a cada 15 dias e com a aplicação de defensivo agrícola (nome comercial: Trinca; ação: inseticida), conforme o indicado pelo fabricante.

3.5. Análises de crescimento e nutricionais das plantas

Durante os experimentos foram avaliados a altura e o diâmetro do colmo das plantas com o auxílio de uma fita métrica e um paquímetro, respectivamente, e no final (após as colheitas), foram determinados por parcela: a) a biomassa seca da parte aérea (folhas, colmo, sabugo) das plantas e dos grãos, nesse caso, amostras do material vegetal foram secas em estufa de ventilação forçada a 65 °C por 72 h); b) número de espigas; c) índice de colheita dos grãos (IC), calculado pela relação entre a massa seca dos grãos e a massa seca aérea total das plantas, sendo o resultado expresso em Kg por ha^{-1}; d) quantificação dos nutrientes (N, P, K) na parte área do milho. As amostras do material vegetal após a secagem foram passadas em moinho tipo Willey com peneira de 1,0 mm de malha e digeridas em mistura de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado com peróxido de hidrogênio (H_2O_2). O P foi determinado por colorimetria (Embrapa, 1999), o K por fotometria de chama (Embrapa, 1999) e o N total por destilação (Bremner & Mulvaney, 1982).

3.6. Análises micorrízicas

3.6.1. Colonização micorrízica

No final de cada experimento, raízes finas de cada uma das oito plantas da área útil de cada parcela foram separadas, lavadas com água, diafanizadas com KOH (10%), coradas com azul de tripano (0,05%) (Phillips & Hayman, 1970) e avaliadas pelo método de interseção dos quadrantes (Giovanetti & Mosse, 1973).

3.6.2. Número de glomerosporos

No início e no final de cada experimento, glomerosporos foram extraídos de amostras compostas de 50 g solo/parcela via peneiramento úmido (Gerdemann & Nicolson, 1963) seguido de centrifugação em água e sacarose (Jenkins, 1964) e contados em placa canaletada em estereomicroscópio (40x).

3.6.3. Proteínas do solo relacionadas à glomalina

As proteínas do solo relacionadas à glomalina foram determinadas no início e no fim de cada experimento (Wright & Upadhyaya, 1998) em cada uma das parcelas. A fração facilmente extraível (PSRB-FE) foi obtida de 0,25 g de solo, que foram autoclavados (121 ºC/ 30 min.) com 2,0 mL de citrato de sódio (20 mM; pH 7,0), seguida de centrifugação (10000 g/5 min) e o sobrenadante armazenado (-4 ºC). Para a extração da fração total (PSRB), foram adicionados 2,0 mL de citrato de sódio (50 mM; pH 8,0) ao sedimento resultante da primeira centrifugação, seguindo-se a extração em autoclave (121 ºC/1h) até o sobrenadante não apresentar cor marrom-avermelhada, característica da glomalina. Após os sobrenadantes resultantes dos ciclos de extração serem centrifugados por 5 min a 10.000 RPM, as frações foram quantificadas pelo método de Bradford (1976) em espectrofotômetro (595 nm), tendo como curva padrão albumina soro bovina (BSA). Os dados foram expressos em mg de proteínas do solo relacionadas à glomalina g^{-1} de agregados após correção dos volumes de extração.

3.7. Atividade microbiana do solo

3.7.1. Carbono da biomassa microbiana

O carbono da biomassa microbiana foi estimado, por parcela, no início e no final de cada experimento por fumigação com clorofórmio livre de etanol em 10 g solo, seguido da extração do carbono com 25,0 mL de sulfato de potássio (0,5 M) e oxidação com 1,0 mL de dicromato de potássio (0,66 mM) em meio com 5,0 mL de ácido sulfúrico concentrado e 0,5 mL de ácido fosfórico concentrado. A quantificação do carbono foi realizada por titulação com sulfato ferroso amoniacal (0,033 N), usando difenilamina 1% como indicador. Os valores foram calculados a partir das amostras de solo fumigadas e não fumigadas, empregado o fator de correção KC= 0,33 e os valores expressos em μg C g^{-1} solo seco (De-Polli & Guerra, 1997). A determinação do carbono da biomassa microbiana foi realizada no início e no fim de cada experimento sendo quantificado por parcela.

3.7.2. Respiração microbiana

Amostras compostas de solo de cada parcela foram tomadas para determinação da emissão de CO_2 pelos micro-organismos do solo. A respiração edáfica foi quantificada no início e no final de cada experimento. Na determinação, amostras de 100,0 g de solo foram incubadas em frasco rosqueável com 10,0 mL de KOH (0,5 N) por 14 dias. O CO_2 foi quantificado por titulação com HCl 0,1 N, utilizando fenolftaleína (0,1 % em etanol) e alaranjado de metila (1,0%) como indicadores de pH. O CO_2 emitido pela respiração dos micro-organismos foi expresso em μg C- CO_2 g^{-1} de solo seco (Grisi, 1978).

3.8. Análise dos dados

. Os números de glomerosporos foram transformados em log x + 1 e os valores de colonização em arcoseno da √x /100. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p<0,05$). As análises foram realizadas com auxílio do programa Assistat versão 7.6 beta

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Dados biométricos e produtividade de grãos e palhada

Diferença na pluviometria entre os anos agrícolas resultou em diferentes condições de crescimento e rendimento das plantas. O ano agrícola de 2012 foi atípico no que se refere à precipitação pluviométrica para o município de São João (PE), com baixo índice durante todo o ano (Tabela 1). Essa condição comprometeu o crescimento e o desenvolvimento adequado da cultura, verificados pelos dados biométricos (Tabela 4) e pela baixa produtividade de grãos (Tabela 5).

Tabela 4. Média da altura, diâmetro do colmo e número de espigas de plantas de milho associadas aos FMA introduzidos e nativos em solo com e sem esterco bovino no município de São João, PE

Inoculação	**Altura** Esterco bovino		**Diâmetro do colmo** Esterco bovino		**Espiga** Esterco bovino	
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
			2012			
***A. longula* 07**	0,79aA	0,70 aA	20,1aA	20,8aA	0,0	0,0
***A. longula* 03**	0,80 aA	0,83 aA	21,1aA	19,aA	0,0	0,0
***C. etunicatun* 06 A**	0,92 aA	0,74 aA	21,9aA	18,8aA	0,0	0,0
NI (FMA nativos)	0,86 aA	0,65 aA	23,7aA	16,2aB	0,0	0,0
CV (%)	16,65		14,47		-	
			2013			
***A. longula* 07**	2,20aA	2,05aA	27,1aA	22,2aB	9,5aA	9,2aA
***A. longula* 03**	2,29aA	1,56aB	26,9aA	18,7abB	10,5aA	8,0aA
***C. etunicatun* 06 A**	2,17aA	1,76aA	27,1aA	20,0abB	10,5aA	8,2aA
NI (FMA nativos)	2,27aA	1,67aB	26,8aA	17,6bB	10,7aA	7,0aA
CV (%)	9,80		7,68		17,60	

NI: Não inoculado; CV: coeficiente de variação; Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%; Letra minúscula compara na coluna e maiúscula na linha em cada ano.

A produtividade da palhada, menos afetada que a dos grãos, foi significativamente maior nas parcelas com adubação orgânica (Tabela 5); os efeitos da inoculação com FMA

exóticos nos dados biométricos e na produtividade do milho não foram detectados (Tabelas 4 e 5).

Em 2013, observou-se efeito da adubação orgânica na altura e no diâmetro do colmo; a inoculação teve efeito apenas sobre o diâmetro do colmo (Tabela 4). As plantas adubadas e inoculadas com *A. longula* 03 apresentaram maior crescimento que as plantas inoculadas com o mesmo isolado e sem adubação, e do que as plantas sem inoculação e não adubadas.

Tabela 5. Produtividade média de matéria seca de grãos e palhada (folhas + colmos + sabugo) e índice de colheita (IC) de grãos de milho cultivado em solo com e sem esterco bovino após a introdução de inóculos de FMA no município de São João, PE.

	2012					
	Grão		**Palhada**		**IC (%)**	
Inoculação	Esterco bovino		Esterco bovino		Esterco bovino	
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
***A. longula* 07**	0,0	0,0	897aA	821aB	0,0	0,0
***A. longula* 03**	0,0	0,0	1098aA	957aB	0,0	0,0
***C. etunicatun* 06 A**	0,0	0,0	1402aA	754aB	0,0	0,0
NI (FMA nativos)	0,0	0,0	1326aA	581aB	0,0	0,0
CV (%)	27,50					
	2013					
***A. longula* 07**	2932aA	2305aB	4719aA	3425aB	38,0aA	41,0aA
***A. longula* 03**	2862aA	1286aB	3866aA	1973aB	43,0aA	40,0aA
***C. etunicatun* 06 A**	3147aA	1592aB	5497aA	2267aB	38,0aA	40,0aA
NI (FMA nativos)	2314aA	813aB	4821aA	1812aB	38,0aA	30,0aA
CV (%)	24,3		27,1		15,9	

NI: Não inoculado; CV: coeficiente de variação; Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%; Letra minúscula compara na coluna e maiúscula na linha em cada ano.

Os diâmetros dos colmos das plantas adubadas foram maiores que os das plantas não adubadas (Tabela 4). Ainda para esse parâmetro, somente as plantas inoculadas com *A longula* 07, sem esterco, diferiram significativamente do tratamento sem inoculação e sem esterco, indicando que este isolado, inoculado em solo sem adubação, promove aumento no diâmetro de plantas de milho. Embora tenham sido observados efeitos da adubação e da inoculação nos dados biométricos da planta, não foram verificados efeitos na produção de

espigas, que foi estatisticamente semelhante em todos os tratamentos (Tabela 4). No entanto, considerando as quatro médias dos tratamentos adubados, em comparação com as médias dos não adubados, maior quantidade de espigas foi produzida pelas plantas que receberam adubo (Tabela 6).

Tabela 6. Média de espigas por área útil em plantas cultivadas em solo com e sem esterco bovino independentemente dos tratamentos de inoculação com FMA no município de São João, PE, 2013

Esterco bovino	Média de espigas
Com	10,31 a
Sem	8,10 b

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5%.

As produtividades de grãos e de palhada também foram afetadas pela adubação (Tabela 5). A maior produtividade de milho nos solos adubados deveu-se à elevada disponibilidade de nutrientes no sistema para absorção pelas plantas, o que facilitou o estabelecimento e o crescimento vegetal. O efeito estimulatório da adubação orgânica no crescimento de plantas foi referido em outros estudos (Trindade *et al*., 2000; Silva *et al*., 2008). Em plantios de milho, Silva *et al*. (2004) observaram aumento significativo nos teores de P, K e Na do solo e no rendimento de espigas e grãos em função do esterco bovino, principal adubo orgânico usado para melhorar a fertilidade dos solos nordestinos (Galvão *et al*., 2008; Sousa *et al*., 2013).

A ausência de efeitos da inoculação pode estar relacionada ao tempo de contato entre os FMA introduzidos e as plantas, que deve ter sido insuficiente para promover aumento significativo da massa seca vegetal. Também deve ser considerado que o uso de inóculos micorrízicos em plantas que não passam por fase de viveiro, como é o caso do milho, não garante a presença do fungo introduzido na raiz. No entanto, a inoculação em campo é importante porque aumenta as chances da planta ser colonizada e, consequentemente, tornar-se mais eficiente em aproveitar os recursos ambientais disponíveis. Ao contrário do registrado no presente estudo, Cozzolino *et al*. (2013) observaram efeitos positivos de inóculos comerciais de *Glomus intraradices* no crescimento das plantas de milho e na produção de grãos. Guo *et al*. (2013) também demonstraram o importante papel desempenhado por inóculos micorrízicos no crescimento do milho, na aquisição de nutrientes e na maior tolerância das plantas à toxidade de metais pesados. Ao contrário do presente trabalho, esses autores observaram respostas diferentes para cada isolado estudado, relatando que a diferença no crescimento vegetal em função do

fungo pode ser resultado das diferentes características morfológicas e moleculares do FMA, e também da adaptação do fungo ao substrato.

Avaliando o uso combinado de esterco bovino com inóculos micorrízicos em cultura de feijão (*Phaseolus*), Alonso *et al*. (2014) verificaram que a menor dose de esterco (15 t ha^{-1}) associada a inóculos de *Glomus cubense* foi suficiente para promover aumento na altura, fitomassa e produção de grãos em comparação às plantas adubadas com 20 t ha^{-1}, indicando que a inoculação com FMA em campo permite reduzir doses desse adubo na produção de feijão. Os autores também sugeriram que para a inoculação ser efetiva é necessário um mínimo de fornecimento de nutrientes em solos agrícolas. Embora a cultura testada no presente estudo tenha sido a de milho, não foi observado efeito da interação entre os FMA e o esterco bovino, indicando que além da cultura adotada, os efeitos da interação dependem da quantidade e da qualidade dos inóculos aplicados, de fatores climáticos e edáficos, entre outros.

4.2. Composição mineral das plantas

No experimento conduzido em 2012, foi observado efeito significativo do adubo orgânico na concentração de K, maior em todas as plantas adubadas (Tabela 7). A concentração de P não diferiu estatisticamente entre os tratamentos. Houve efeito da inoculação e da adubação na concentração de N, menor nas plantas inoculadas com *C. etunicatum* no solo não adubado (Tabela 7). Ao contrário dos resultados do presente trabalho, vários estudos apontam maior concentração de macronutrientes em plantas de milho inoculadas com FMA, seja o estudo conduzido em campo (Pellegrino *et al*., 2012) ou em casa de vegetação (Guo *et al*., 2013). Os autores atribuem esse resultado à contribuição dos fungos arbusculares na captação e translocação dos nutrientes para a planta, o que não foi investigado no presente estudo.

Em 2013, diferentemente do ano anterior, não houve efeito da adubação e da inoculação com FMA nos macronutrientes, com exceção das plantas adubadas e inoculadas com *A. longula* 07, que apresentaram o menor teor de K.

Considerando os resultados dos dois anos observou-se que em condições de estresse hídrico foi mais fácil verificar qualquer efeito de inoculação e de adubação na composição mineral das plantas de milho do que em condições hídricas mais favoráveis, quando os fungos nativos, em conjunto com os demais organismos do solo, mostraram-se bem adaptados e executaram satisfatoriamente o seu papel. Nesse caso, deve-se levar em

consideração que a adubação realizada no ano anterior nas parcelas adubadas e a matéria orgânica em decomposição proveniente das raízes e da palhada das plantas da bordadura, podem ter promovido a fertilidade do solo, impedindo o efeito isolado ou combinado dos inóculos com FMA e esterco bovino.

Ao contrário do observado no presente trabalho, Cozzolino *et al*. (2013) registraram que a introdução de espécies exóticas de FMA em plantas de milho favoreceu significativamente a captação de nutrientes (P e N). Pellegrino *et al*. (2011) também observaram que a cultura de milho teve o crescimento e absorção de nutrientes estimulados pelo efeito residual da inoculação com FMA, realizado dois anos antes em cultura de leguminosa. Por outro lado, Santos *et al*. (1996) verificaram que o uso de inóculos micorrízicos em plantas de milho não promoveu incremento no acúmulo de fitomassa e de P, atribuindo o resultado ao tempo de condução do experimento (46 dias), insuficiente para o desenvolvimento completo da simbiose e sua efetividade em casa-de-vegetação.

Tabela 7. Concentrações de nutrientes da parte aérea de plantas de milho associadas aos FMA introduzidos e nativos em solo com e sem esterco bovino no município de São João, PE

	2012					
	N		**P**		**K**	
Inoculação	Esterco bovino		Esterco bovino		Esterco bovino	
	Com	Sem	Com	Sem	Com	Sem
***A. longula* 07**	7,5aA	8,9aA	3,1aA	2,6aA	14,58aA	9,88aB
***A. longula* 03**	9,3aA	7,6abA	3,4aA	2,7aA	11,35aA	8,70aB
***C. etunicatun* 06 A**	9,5aA	4,2bB	2,7aA	2,5aA	10,13aA	8,40aB
NI (FMA nativos)	7,7aA	6,3abA	2,7aA	3,0aA	11,73aA	7,88aB
CV (%)	25,00		17,76		21,18	
	2013					
***A. longula* 07**	5,6aA	5,4aA	1,5aA	1,4aA	18,2aA	11,7aB
***A. longula* 03**	6,0aA	6,0aA	1,7aA	1,5aA	18,8aA	13,4aA
***C. etunicatun* 06 A**	5,8aA	5,5aA	1,7aA	1,0aA	16,0aA	11,8aA
NI (FMA nativos)	5,4aA	0,41aA	1,4aA	1,5aA	16,9aA	12,6aA
CV (%)	12,27		25,12		36,10	

NI: Não inoculado; CV: coeficiente de variação; Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%; Letra minúscula compara na coluna e maiúscula na linha em cada ano.

Embora a promoção de crescimento e a nutrição mineral sejam importantes resultados da simbiose, eles não são os únicos. É possível que as plantas inoculadas tenham sido beneficiadas em outros atributos vegetais, principalmente no ano agrícola de 2012, quando as condições hídricas não estavam favoráveis para o desenvolvimento adequado. Cavalcante *et al*. (2001) verificaram, por exemplo, que a produção de folhas e a expansão foliar de maracujazeiro amarelo inoculado com FMA continuaram a aumentar mesmo depois das plantas terem sido submetidas a estresse hídrico por sete dias, ao contrário do maracujazeiro não inoculado, que teve o desenvolvimento paralisado. Os autores observaram também, que a inoculação com *Gigaspora albida* e *Gigaspora margarita* promoveu menores taxas de transpiração e aumentou a resistência difusiva das plantas.

O estabelecimento e o funcionamento da micorriza arbuscular durante o estresse envolvem complexo processo de reconhecimento e desenvolvimento (Folli-Pereira *et al*., 2012), resultando em alterações bioquímicas, fisiológicas e moleculares nos dois organismos envolvidos indo, portanto, muito além da nutrição (Berbara *et al*., 2006).

4.3. Colonização micorrízica

Houve efeito significativo da adubação orgânica e da inoculação com FMA na colonização micorrízica do milho nos dois anos agrícolas (Tabela 8). Em 2012, as maiores taxas de colonização foram registradas nos tratamentos com adição de inóculo e adubo; porém, não foi constatada diferença significativa em função dos isolados de FMA aplicados. Resultado similar ao presente trabalho foi observado por Guo *et al*. (2013) estudando os efeitos da inoculação de três espécies de *Glomus* na colonização micorrízica do milho cultivado em substrato oriundo de mina de carvão. No entanto, quando os autores utilizaram outro substrato oriundo da mina de carvão observaram diferença significativa na colonização em função do isolado, atribuindo o resultado à existência de um certo grau de seletividade entre as espécies de FMA e o substrato onde a planta é cultivada, condições que podem resultar em diferentes taxas de colonização radicular. Considerando que alta colonização pode refletir em maior dependência da planta pelo fungo (Thorne *et al*., 2013), a deficiência hídrica observada durante a realização do experimento em 2012 pode ter colaborado para a ocorrência de maiores taxas de colonização no milho inoculado. Isso é

confirmado pelo fato de todas as plantas inoculadas com FMA terem maiores taxas de colonização que as plantas não inoculadas. A colonização micorrízica foi beneficiada pela adubação orgânica (Tabela 8); nesse caso, é amplamente conhecido na literatura que a matéria orgânica pode estimular o crescimento e a ramificação das hifas do fungo aumentando a quantidade de propágulos capazes de formar novos pontos de colonização, e consequentemente, promover a ocorrência da simbiose arbuscular (Silva, 2006). Outro fator que pode ter contribuído para esse resultado é o melhor desenvolvimento do vegetal na presença de uma fonte orgânica, o que resulta em mais áreas radiculares a serem colonizadas pelos fungos (Silva, 2006). No entanto, isso não é uma regra, pois em 2013 todas as plantas tratadas com FMA (adubadas ou não) não diferiram estatisticamente, com exceção das plantas inoculadas com *A. longula* 07, que apresentaram menor colonização em solo não adubado (Tabela 8).

Tabela 8. Percentual de colonização micorrízica em plantas de milho associadas aos FMA introduzidos e nativos em solo com e sem esterco bovino no município de São João, PE

Inoculação	**Colonização micorrízica**	
	2012	
	Esterco bovino	
	Com	Sem
***A. longula* 07**	73,6aA	65,7aB
***A. longula* 03**	73,7aA	64,2aB
***C. etunicatun* 06 A**	68,1aA	59,6aB
NI (FMA nativos)	53,7bA	46,6bB
CV (%)	10,96	
	2013	
***A. longula* 07**	83,25aA	68,25aB
***A. longula* 03**	80,50aA	72,25aA
***C. etunicatun* 06 A**	81,5aA	73,50aA
NI (FMA nativos)	62,25bA	53,5bA
CV (%)	7,75	

NI: Não inoculado; CV: coeficiente de variação; Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Letra minúscula compara na coluna e maiúscula na linha em cada ano.

O melhor estabelecimento dos fungos exóticos no sistema, a maior disponibilidade de água no solo e o somatório de inóculos de FMA introduzidos nos dois anos consecutivos podem ter colaborado para maior colonização micorrízica em 2013.

De modo similar ao presente trabalho, Cozzolino *et al*. (2013) observaram incremento na colonização micorrízica em plantas de milho após a inoculação com FMA em condições de campo, verificando também que o percentual de colonização micorrízica não refletiu maior acúmulo de biomassa seca. Outros estudos, porém, apontam correlação positiva entre esses parâmetros (Oliveira & Oliveira, 2004; 2005), associando à eficiência dos FMA na captação e translocação de nutrientes para as plantas que, consequentemente, aumentam a fitomassa.

4.4. Número de glomerosporos

Os efeitos da inoculação com FMA no número de glomerosporos no solo variou de acordo com a adubação do solo, o isolado e o modo como os inóculos foram produzidos (Tabela 9).

Tabela 9. Número de glomerosporos (NG) antes e após a introdução de FMA exóticos em solo com e sem esterco bovino em cultivo de milho, no município de São João, PE

	NG		
	2012		
Inoculação	**Época**	**Esterco bovino**	
		Com	Sem
***A. longula* 07**	Início	58 aA	65 bA
	Final	80 aA	151 aA
***A. longula* 03**	Início	90 bA	44 bA
	Final	356 aA	138 aA
***C. etunicatun* 06 A**	Início	67 aA	88 aA
	Final	150 aA	104 aA
NI (FMA nativos)	Início	53 aA	77 aA
	Final	110 aA	149 aA
CV (%)		52,62	
	2013		
***A. longula* 07**	Início	112 aA	117 bA
	Final	156 aA	183 aA
***A. longula* 03**	Início	104 aA	52 bA
	Final	196 aB	807 aA
***C. etunicatun* 06 A**	Início	118 bA	121 aA
	Final	408 aA	249 aA
NI (FMA nativos)	Início	140 aA	64 aA
	Final	258 aA	218 aA
CV (%)		34,68	

NI: Não inoculado; CV: coeficiente de variação; Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Letra minúscula compara na coluna; letra maiúscula compara na linha em cada ano.

Em 2012, a inoculação com *A longula* 07 no solo não adubado aumentou significativamente o número de glomerosporos. Comportamento semelhante foi observado nas parcelas inoculadas com *A longula* 03, independente da adubação.

Em 2013, também foi observado, no final do experimento, aumento significativo de glomerosporos em função da inoculação com *A. longula* 03 (>15x), em solo não adubado, e com *C. etunicatum* 06 A (>3,4), em solo adubado (Tabela 9). A influência positiva da introdução de *A. longula* 03 no número de glomerosporos no solo, observada nos dois anos de plantio, demonstra que inóculos desse isolado podem ser aplicados em áreas semiáridas, podendo aumentar o potencial infectivo de FMA no solo.

O isolado *A. longula* 03 mereceu destaque porque além de as plantas do tratamento com a aplicação desse isolado apresentarem altas taxas de colonização, como observada nas demais plantas inoculadas (Tabela 8), favoreceu a esporulação em condições naturais em mais de 15 vezes (Tabela 9). O efeito mais expressivo do *A. longula* 03 na esporulação, exceto quando foi introduzido no solo adubado em 2013, pode estar relacionado ao modo como foi produzido (em casa de vegetação em vaso com solo sem substrato orgânico e com diversos hospedeiros), diferente dos demais isolados (em canteiro a céu aberto com um hospedeiro e com o substrato adubado). Na tentativa de sobreviver no campo, condição muito diferente da casa-de-vegetação, possivelmente o fungo introduzido esporulou significativamente ou ainda tenha influenciado alguma(s) espécie(s) nativa(s) a se multiplicar(em). A identificação morfológica e molecular dos esporos nesse caso poderia contribuir no entendimento destas relações.

Nos demais tratamentos não foram verificados efeitos da adubação, da inoculação e do plantio no número de glomerosporos do solo. Verificando os efeitos de plantas de cobertura como fonte de matéria orgânica em plantios de milho, Benedetti *et al*. (2005) também não observaram mudança significativa no número de glomerosporos após o estabelecimento da cultura, confirmando que a compreensão da interação entre fungos, fatores edáficos e planta hospedeira, principalmente em ambientais agrícolas, ainda está longe de ser bem compreendida.

4.5. Proteínas do solo relacionadas à glomalina (PSRG)

As práticas utilizadas na agricultura podem aumentar ou diminuir o teor de PSRG no solo. No presente estudo, não foi observado aumento nos teores de PSRG após o plantio de milho, independente da aplicação de esterco bovino e da inoculação com FMA (Tabelas

10 e 11), exceto nas parcelas inoculadas com *A. longula* 07 no solo adubado em 2013 (Tabela 11). Em 2012, o resultado pode estar relacionado às condições ambientais desfavoráveis as quais foi submetida a cultura. Sem estímulo satisfatório oriundo da comunidade vegetal, é possível que a produção da glomalina pelos FMA tenha sido prejudicada. Outro fator que pode ser considerado é a baixa umidade presente no solo em virtude da baixa pluviosidade registrada em 2012 (tabela 1). Rillig *et al*. (2001) relataram que a baixa umidade do solo não favorece a germinação dos glomerosporos e consequentemente, afeta a produção e o acúmulo da glomalina no sistema, já que a produção é realizada principalmente pelas hifas (Lovelock *et al*., 2004). Embora as condições hídricas em 2013 tenham sido mais favoráveis que em 2012, o tempo de condução do experimento pode não ter sido suficiente para detectar o aumento das PSRG em condições naturais. Também, o revolvimento do solo durante a colheita das plantas em 2012, o período de pousio entre os cultivos dos dois anos agrícolas e as práticas de capinagem para o controle das plantas daninhas durante o experimento 2013 podem ter afetado a dinâmica dessas proteínas no solo.

Tabela 10. Proteínas do solo reativas ao Bradford facilmente extraíveis (PSRB-FE) antes e após a introdução de FMA em solo com e sem esterco bovino em cultivo de milho, no município de São João, PE

	PSRB-FE 2012		
Inoculação	**Época**	**Esterco bovino**	
		Com	Sem
***A. longula* 07**	Início	0,22aA	0,64 aA
	Final	0,48 aA	0,45 aA
***A. longula* 03**	Início	0,49 aA	0,48 aA
	Final	0,39 aA	0,42 aA
***C. etunicatun* 06 A**	Início	0,41 aA	0,41 aA
	Final	0,32 aA	0,34 aA
NI (FMA nativos)	Início	0,58 aA	0,58 aA
	Final	0,49 aA	0,41 aA
CV (%)		38,10	
	2013		
***A. longula* 07**	Início	0,28 aA	0,13 aA
	Final	0,56 aA	0,12 aA
***A. longula* 03**	Início	0,28 aA	0,14 aA
	Final	0,81 aA	0,14 aA
***C. etunicatun* 06 A**	Início	0,18 aA	0,12 aA
	Final	0,53 aA	0,12 aA
NI	Início	0,23 aA	0,19 aA

(FMA nativos)	Final	0,27 aA	0,14 aA
CV (%)		>100	

NI: Não inoculado; CV: coeficiente de variação; Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Letra minúscula compara na coluna e maiúscula compara na linha em cada ano.

Além desses fatores, solos com período de pousio podem apresentar menores teores de glomalina que solos com cultivo contínuo (Wright & Anderson, 2000), uma vez que as áreas sem cobertura vegetal ficam mais expostas a perturbações ambientais, não favorecendo o crescimento fúngico e a produção da glomalina. Ao contrário do registrado no presente estudo, Wuest *et al*. (2005) observaram que o acúmulo das PSRG foi favorecido pelo aumento da fertilidade do solo após a aplicação de esterco bovino, confirmando que solos férteis podem beneficiar a síntese da glomalina por estimular a produção de hifas externas responsáveis pela sua produção.

Tabela 11. Proteínas do solo reativas ao Bradford (PSRB) antes e após a introdução de FMA em solo com e sem esterco bovino em cultivo de milho, no município de São João, PE

	PSRB 2012		
Inoculação	**Época**	**Esterco bovino**	
		Com	Sem
***A. longula* 07**	Início	0,30 aA	0,64 aA
	Final	0,78 bA	0,48 aA
***A. longula* 03**	Início	0,61 aA	0,48 aA
	Final	0,56 aA	0,50 aA
***C. etunicatun* 06 A**	Início	0,51 aA	0,41 aA
	Final	0,30 aA	0,47 aA
NI (FMA nativos)	Início	0,59 aA	0,58 aA
	Final	0,52 aA	0,46 aA
CV (%)		43,62	
	2013		
***A. longula* 07**	Início	0,37 aA	0,15 aA
	Final	1,01 aA	0,11 aA
***A. longula* 03**	Início	0,24 aA	0,14 aA
	Final	0,89 aA	0,14 aA
***C. etunicatun* 06 A**	Início	0,26 aA	0,14 aA
	Final	0,77 aA	0,15 aA
NI (FMA nativos)	Início	0,34 aA	0,21 aA
	Final	0,37 aA	0,16 aA
CV (%)		>100	

NI: Não inoculado; CV: coeficiente de variação; Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Letra minúscula compara na coluna e maiúscula compara na linha em cada ano.

.

De modo geral, as concentrações de PSRG registradas em áreas do semiárido nordestino tem sido menores que 1,5 mg por grama de solo (Cardoso Júnior, 2010; Sousa *et al*., 2011). É possível que as PSRG apresentem papel primordial como fonte de N e C para a microbiota do solo em áreas semiáridas, já que são ricas nesses elementos (Rillig *et al*., 2001). Essa hipótese é reforçada pelo fato de o solo estar sob altas temperaturas (média de 27 °C) e regimes hídricos irregulares (200 a 800 mm/ano), e apresentar, em geral, baixa fertilidade (Galvão *et al*., 2008), fatores que influenciam a microbiota a utilizar esse grupo de proteínas como fonte de energia, impedindo o acúmulo no solo. De modo similar ao presente trabalho, Sousa *et al*. (2013) também observaram que os teores de PSRG foram inferiores a 1,0 mg por g de solo em plantios de milho com feijão.

4.6. Atividade microbiana geral do solo

Não houve efeito da adubação e da inoculação com FMA no desprendimento de CO_2 e no CBM do solo (Tabelas 10 e 11) nos dois anos agrícolas. A contribuição dos FMA na atividade biológica geral do solo é resultado de ações direta e/ou indiretamente executadas pelo fungo no ecossistema. Diretamente, quando servem de fonte e depósito de carbono para a microbiota e atuam na agregação e estruturação do solo (Rillig *et al*., 2004) e, indiretamente, a partir do momento em que contribuem para captação de nutrientes e os transferem para as plantas, que por sua vez, se desenvolvem mais adequadamente e alocam compostos secundários para a raiz, que servem de estímulo e influenciam a atividade dos micro-organismos do solo (Folli-Pereira *et al*., 2012; Singh *et al*., 2013). No presente trabalho não foram verificadas essas influências.

Tabela 12. Respiração microbiana (RES) antes e após a introdução de FMA exóticos em solo com e sem esterco bovino em cultivo de milho, no município de São João, PE

	RES ($\mu g\ C\text{-}CO_2\ g^{-1}$ de solo seco) 2012		
Inoculação	**Época**	**Esterco bovino**	
		Com	Sem
***A. longula* 07**	Início	4,51 aA	5,57 aA
	Final	6,72 aA	4,84 aA
***A. longula* 03**	Início	3,53 aA	4,00 aA
	Final	7,15 aA	3,20 aA
***C. etunicatun* 06 A**	Início	6,81 aA	5,32 aA
	Final	4,97 aA	6,10 aA

NI (FMA nativos)	Início	5,56 aA	3,68 aA
	Final	5,08 aA	4,07 aA
CV (%)		51,50	
	2013		
***A. longula* 07**	Início	5,18 aA	4,59 aA
	Final	8,22 aA	2,84 aA
***A. longula* 03**	Início	3,23 aA	3,70 aA
	Final	6,17 aA	3,60 aA
***C. etunicatun* 06 A**	Início	5,43 aA	2,74 aA
	Final	9,23 aA	3,34 aA
NI (FMA nativos)	Início	4,49 aA	2,75 aA
	Final	8,43 aA	1,37 aA
CV (%)		66,24	

NI: Não inoculado; CV: coeficiente de variação; Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%. Letra minúscula compara na coluna e maiúscula compara na linha em cada ano.

Nos solos adubados era esperado que a emissão de CO_2 e os teores de carbono microbiano fossem maximizados em virtude da presença de micro-organismos aderidos ao composto orgânico e também, ao melhor desenvolvimento dos vegetais em tais solos proporcionaria maiores emissões de CO_2 pela microbiota. No entanto, isso não ocorreu (Tabelas 10 e 11). O fato de a condição hídrica ter sido precária em 2012 (Tabela 1) pode ter influenciado negativamente a atividade dos micro-organismos. Isso é confirmado pelo aumento dos teores de CBM do solo no segundo ano agrícola (2013) quando a precipitação pluviométrica foi maior que no primeiro ano (Tabela 1). Laurente *et al*. (2011), estudando o efeito do uso e manejo do solo nos atributos químicos, físicos e microbiológicos, verificaram que a respiração e o carbono microbiano foram maiores em período de alta precipitação pluviométrica em relação ao período de chuvas escassas.

Tabela 13. Carbono da biomassa microbiana (CBM) antes e após a introdução de FMA exóticos em solo com e sem esterco bovino em cultivo de milho, no município de São João, PE

	CBM ($\mu g\ C\ g^{-1}$ solo seco)		
	2012		
Inoculação	**Época**	**Esterco bovino**	
		Com	Sem
***A. longula* 07**	Início	63,91 aA	48,39 aA
	Final	83,89 aA	71,62 aA
***A. longula* 03**	Início	53,15 aA	65,96 aA
	Final	54,03 aA	30,77 aA
***C. etunicatun* 06 A**	Início	70,09 aA	76,31 aA

	Final	69,79 aA	88,45 aA
NI (FMA nativos)	Início	72,09 aA	57,37 aA
	Final	56,71 aA	49,31 aA
CV (%)		73,93	
	2013		
***A. longula* 07**	Início	255,18 aA	218,50 aA
	Final	248,06 aA	94,99 aA
***A. longula* 03**	Início	261,88 aA	166,69 aA
	Final	209,84 aA	128,38 aA
***C. etunicatun* 06 A**	Início	258,59 aA	215,59 aA
	Final	348,80 aA	184,57 aA
NI (FMA nativos)	Início	244,80 aA	205,97 aA
	Final	155,40 aA	60,40 aA
CV (%)		67,18	

NI: Não inoculado; CV: coeficiente de variação; Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de tukey a 5%. Letra minúscula compara na coluna e maiúscula compara na linha em cada ano.

Ainda de acordo com os autores, a biomassa microbiana diminui nos períodos secos e com o retorno das chuvas ocorre o aumento da umidade do solo e a retomada significativa da sua atividade. Isso é possível por que a microbiota usa a matéria orgânica acumulada no período seco (incluindo células mortas) como fonte de carbono, resultando em maior atividade microbiana nos períodos com maiores precipitações pluviométricas (Laurente *et al*., 2011).

Estudando a influência de plantas de cobertura como fonte de matéria orgânica no CBM e na respiração do solo, Cunha *et al.* (2011) não observaram diferenças significativas entre os tratamentos de pousio e os com plantas de cobertura, tanto na camada de 0–0,1 m como na de 0,1–0,2 m do solo, estando a cultura de milho sob preparo convencional ou semeadura direta. Esse resultado, somado ao do presente trabalho, confirmam que a atividade microbiana do solo nem sempre reflete a mudança de fertilidade do solo. O período de duração do experimento também pode ter sido insuficiente para permitir a mensuração dos efeitos do adubo e dos inóculos. Ao contrário do observado no presente trabalho, Silva (2009) verificou que a inoculação com *G. clarum* em solo proveniente de plantio de milho, rotacionado com soja e sorgo, influenciou positivamente a respiração e o carbono microbiano, relatando o efeito indireto proporcionado pelo fungo.

5. CONCLUSÕES

Nas condições testadas, a inoculação com fungos micorrízicos arbusculares não foi suficiente para aumentar a produtividade e a composição mineral de plantas de milho em condições de campo, independente da adubação do solo.

Por outro lado, a aplicação de esterco bovino em plantios de milho influenciou positivamente a produtividade, com o efeito na composição mineral das plantas dependendo do nutriente analisado e das condições hídricas às quais a cultura do milho foi submetida.

Nas condições do presente trabalho é possível que a inoculação com FMA em sistemas agrícolas traga benefícios significativos em longo prazo, uma vez que, contribuiu com o potencial infectivo do solo, verificado pela maior colonização das plantas e número de glomerosporos nos solos inoculados.

Conclui-se também que os teores de proteínas do solo relacionadas à glomalina e a atividade microbiana nem sempre refletem as mudanças de fertilidade do solo em curto prazo.

Sugere-se a realização de estudos com doses maiores de inóculos micorrízicos combinadas, com doses menores de esterco bovino a fim de obter ganhos em produtividades sem adição desnecessária de adubo.

REFERÊNCIAS

Almeida, M.Z. 2007. Simulação gráfica do crescimento de plantas de milho. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

Alonso, G.M.M., Cañizarez, P.J.G., Espinosa, R.R., Batista, J.A., Díaz, A.P. 2014. Efecto de la aplicación de estiércol vacuno e inoculación micorrizica sobre el crecimiento y producción de semillas de *Canavalia ensiformis* en suelos ferralíticos rojos lixiviados. *Cultivos Tropicales* 35(1): 86-91.

Angelini, G.A.R., Loss, A., Pereira, M.G., Torres, José L.R., Saggin Júnior, O.J. 2012. Mycorrhizal colonization, spore density and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Cerrado soil under no-till and conventional tillage systems. *Ciências Agrárias* 33(1): 115-130.

Azevedo, G.C. 2010. Análise molecular da inoculação a campo do fungo micorrízico arbuscular (FMA) *Glomus etunicatum* CNPAB5 em plantas de milho, crotalária e batata-doce. Dissertação de mestrado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Seropédica.

Balota, E.L., Colozzi-Filho A., Andrade, D.S., Hungria, M. 1998. Biomassa microbiana e sua atividade em solos sob diferentes sistemas de preparo e sucessão de culturas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 22: 641-649.

Balota, E.L., Lopes, E.S. 1996. Introdução de fungo micorrizico arbuscular no cafeeiro em condições de campo: I. Persistência e interação com espécies nativas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 20: 217-223,

Benedetti, T., Antoniolli, Z.I., Giracca, E.M.N., Steffen, R.B. 2005. Diversidade de fungos micorrízicos arbusculares na cultura do milho após uso de espécies de plantas de cobertura de solo. *Revista de Ciências Agroveterinárias* 4(1): 44-51.

Berbara, R.L.L., Souza, F.A., Fonsec, H.M.A.C. 2006. III - Fungos micorrízicos arbusculares: muito além da nutrição SBCS, Viçosa. Nutrição Mineral de Plantas, 432p. (ed. FERNANDES, M.S.).

Bezerra, M.E.de J., Lacerda, C.F., Sousa, G.G., Gomes, V.F.F.; Mendes Filho, P.F. 2010. Biomassa, atividade microbiana e FMA em rotação cultural milho/feijão-de-corda utilizando-se águas salinas. *Revista Ciência Agronômica* 41(4): 562-570,

Campos, D,T,S., Andrade, J.A.C., Cassiolato, A.M.R. 2010. Crescimento e micorrização de genótipos de milho em casa de vegetação. *Bragantia* 69(3): 555-562.

Cardozo Júnior, F.M. 2010. Dinâmica e biodiversidade de fungos micorrízicos arbusculares em diferentes áreas sob influência do processo de desertificação em Gilbués/Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Piauí, Bom Jesus.

Carrenho, R., Silva, E.S., Trufem, S.F.B., Bononi, V.L.R. 2001. Sucessive cultivation of maize and agricultural practices on root colonization, number of spores and species of arbuscular mycorrhizal fungi. *Brazilian Journal of Microbiology* 32: 262-270.

Cavalcante, U.M.T., Maia, L.C., Nogueira, R.J.M.C., Santos, V.F. 2001. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis sims.* F. *Flavicarpa* deg.) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. *Acta Botanica Brasilica*, 15(3): 379-390.

Cordeiro, M.A.S., Carneiro, M.A.C., Paulino, H. B., Saggin Júnior, O.J. 2005. Colonização e densidade de esporos de fungos micorrízicos em dois solos de cerrado sob diferentes sistemas de manejo. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 35(3): 147-153.

Cornejo, P., Meier, S., Borie, G., Rillig, M.C., Borie, F. 2008. Glomalin-related soil protein in a Mediterranean ecosystem affected by a copper smelter and its contribution to Cu and Zn sequestration. *Science of the Total Environment* 406 (1-2): 154-160.

Costa, T.A., Pintro, J.C., Silva, E.S., Costa, S.M.G. 2002. Influência da inoculação de fungos micorrízicos arbusculares, da acidez do solo e de fontes de fósforo no crescimento do milho. *Acta Scientiarum Maringá* 24(5):1583-1590.

Cozzolino, V., Di Meo, V., Piccolo, A. 2013. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi applications on maize production and soil phosphorus availability. *Journal of Geochemical Exploration* 129: 40-44.

Cruz, A.F., Martins, M.A. 1998. Efeitos de fungos micorrízicos arbusculares e doses de N sobre plantas cultivadas em sistema de consórcio. *Revista Ceres* 45(257): 41-54.

Cunha, E.Q., Stone, L.F., Ferreira, E.P.B., Didonet, A.D., Moreira, J.A.A., Leandro, W.M. 2011. Sistemas de preparo do solo e culturas de cobertura na produção orgânica de feijão e milho. ii - atributos biológicos do solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 35: 603-611.

Deparis, G.A. 2006. Espaçamento, adubação nitrogenada e potássica em cobertura na cultura do milho. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.

Deuner, S., Nascimento, R., Ferreira, LS., Badinelli, PG., Kerber, R.S. 2008. Adubação foliar e via solo de nitrogênio em plantas de milho em fase inicial de desenvolvimento. *Ciência e Agrotecnologia* 32 (5): 1359-1365.

Doran, J.W., Parkin, T.B. 1994. Defining and assessing soil quality. In: Doran, J.W.; Coleman, D.C.; Bezdicek, D.F.; Stewart, B.A. (Org.) Defining soil quality for a sustainable environment. Madison: SSSA, pp. 3-21.

Fancelli, A.L., Dourado Neto, D. 2003. Milho: Estratégias de manejo para alta produtividade. Piracicaba: ESALQ-USP-LPV

Figueredo Júnior, L. G. M. 2004. Modelo para estimação da produtividade de grãos de milho no Estado de São Paulo. Tese de doutorado. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

Focchi, S.S., Soglio, F.K.D., Carrenho, R., Souza, P.V.D., Lovato, P.E. 2004. Fungos micorrízicos arbusculares em cultivos de citros sob manejo convencional e orgânico. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 39: 469-476.

Folli-Pereira, M.S., Meira-Haddad, L.S., Bazzolli, D.M.S., Kasuya, M.C.M. 2012. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo* 36: 1663-1679.

Galvão, S.R.S., Salcedo, I.H., Oliveira, F.F. 2008. Acumulação de nutrientes em solos arenosos adubados com esterco bovino. Pesquisa Agropecuária Brasileira 43(1): 99-105.

Gama-Rodrigues, E.F., Gama-Rodrigues, A.C., Paulino, G.M., Franco, A.A. 2008. Atributos químicos e microbianos de solos sob diferentes coberturas vegetais no norte do estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 32: 1521-1530.

Gerdemann, J.W., Nicolson, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-244.

Giovanetti, M., Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489-500.

Graham, J.H., Eissenstat, D.M. 1994. Host genotype and the formation and function of VA mycorrhizae. *Plant Soil*, 159: 179-185.

Guo, W., Zhao, R., Fu, R., Bi, N., Wang, L., Zhao, W., Guo, J., Zhang, J. 2013. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the development of maize (*Zea mays* L.) grown in three types of coal mine spoils. *Environment Science Pollution Research*. Published on line november 2013.

Islam, K.R., WEIL, R.R. 1998. Microwave irradiation of soil for routine measurement of microbial biomass carbon. *Biology and Fertility of Soils***.** 27: 408-416.

Jenkins, WR. 1964. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Report* 48: 692.

Jenkinson, D.S., Powlson, D.S. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-I. Fumigation with chloroform. *Soil Biology & Biochemistry*, 8: 167-177.

Koide, R. T., Mosse, Barbara. 2004. A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza* 14:145–163.

Lins, G.D.L., Trindade, A.V., Rocha, H.S. 2003. Utilização de *Gigaspora margarita* em plantas micropropagadas de bananeira em diferentes estádios de enraizamento. *Revista Brasileira de Fruticultura* 25(1): 143-147.

Lourente, E.R.P., Mercante, F.M., Alovisi, A.M.T., Cezesmundo, F.G., Gasparini, A.S., Nunes, C.M. 2011. Atributos microbiológicos, químicos e físicos de solo sob diferentes sistemas de manejo e condições de cerrado. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 41(1): 20-28.

Lovelock, C.E., Wright, S.F., Clark, D.A., Ruess, R.W. 2004. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungal across a tropical rain forest landscape. *Journal of Ecology* 92 (2): 278-287.

Lozada, B.I., Angelocci, L.R. 1999. Efeito da temperatura do ar e da disponibilidade hídrica do solo na duração de subperíodos e na produtividade de um híbrido de milho. *Revista Brasileira de Agrometeorologia* 7 (1): 37-43.

Loss, A., Pereira, M.G., Anjos, L.H.C., Giacomo, S.G., Perin, A. 2011. Agregação, carbono e nitrogênio em agregados do solo sob plantio direto com integração lavoura-pecuária. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 46(1): 648-658.

Lúcio, W.S., Feitosa, L.C., Mendes Filho, P.F., Hernandez, F.F.F., Neves, A.L.R.; Gomes-Filho, E. 2013. Crescimento e respostas fisiológicas do meloeiro inoculado com fungos micorrízicos arbusculares sob estresse salino. *Ciências Agrárias* 34(4): 1587-1602.

Magalhães, P.C., Durães, F.O.M., Carneiro, N.P., Paiva, E. 2002. Fisiologia da planta de milho. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, p. 23 (Circular Técnica 22).

Magalhães, P.C., Durães, F.O.M., Paiva, E. 1995. Fisiologia da planta de milho. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, p. 27 (Circular Técnica 20).

Mapa. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2013. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/milho acesso em: 20 dezembro 2013.

Martinez, T.N., Johnson, N.C. 2010. Agricultural management influences propagule densities and functioning of arbuscular mycorrhizas in low-and high-imput agroecosystems in arid environments. *Applied Soil Ecology* 46: 300-306.

Moreira, F.M.S, Siqueira, J.O. 2002. Ecologia do solo In: Moreira, F.M.S; Siqueira, J.O. (Eds.). Microbiologia e Bioquímica do Solo. Lavras: UFLA, pp. 81- 152.

Murphi, J., Riley, J. P. A. 1962. A modified simple solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27:31-36.

Nunes, L.A.P.L., Araújo Filho, J.A., Holanda Júnior, E.V., Menezes, R.I.Q. 2009. Impacto da queimada e de enleiramento de resíduos orgânicos em atributos biológicos de solo sob caatinga no semi-árido nordestino. *Caatinga* 22(1): 131-140.

Odeyemi, I.S., Afolami, S.O., Sosanya, O.S. 2010. Effect of *Glomus mosseae* (arbuscular mycorrhizal fungus) n host parasite relationship of *Meloidogyne incognita* (Southern root nematode) on four improved cowpea varieties. *Journal of Plant Protection Research* 50: 320-325.

Oliveira, A.N., Oliveira, L.A. 2004. Associação micorrízica e teores de nutrientes nas folhas de cupuaçuzeiro (*theobroma grandiflorum*) e guaranazeiro (*paullinia cupana*) de

um sistema agroflorestal em Manaus, Amazonas. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 28: 1063-1068.

Oliveira, A.N., Oliveira, L.A. 2005. Colonização por fungos micorrízicos arbusculares e teores de nutrientes em cinco cultivares de bananeiras em um latossolo da Amazônia. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 29: 481-488.

Oliveira, J.R.G., Moraes, T.A.L., Melo, N.F., Yano-Melo, A.M. 2010. Fungos micorrízicos e rizobactérias promotoras de crescimento na aclimatização de *Zingiber spectabile*. *Bragantia* 69 (3): 687-694.

Pavinato, P.S., Ceretta, C.A., Girotto, E., Moreira, I.C.L. 2008. Nitrogênio e potássio em milho irrigado: análise técnica e econômica da fertilização. *Ciência Rural* 38(2): 358-364.

Paz-Ferreiro, J., Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Seoane, S., Gil-Sotres, F. 2010. Effect of management and climate on biochemical properties of grassland soils from Galicia (NW Spain). *European Journal of Soil Biology*. (46): 136-143.

Pellegrino, E., Bedini, S., Avio, L., Bonari, E., Giovannetti, M. 2011. Field inoculation effectiveness of native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi in a Mediterranean agricultural soil. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 367–376

Pellegrino, E., Turrini, A., Gamper, H.A., Cafà, G., Bonari, E., Young, J.P.W., Giovannetti, M. 2012. Establishment, persistence and effectiveness of arbuscular mycorrhizal fungal inoculants in the field revealed using molecular genetic tracing and measurement of yield components. *New Phytologist* 194: 810-822.

Phillips, J.M., Hayman, D. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55: 158-161.

Reis, E.F., Carneiro, M.A.C., Douglas, O., Rotta, A., Sousa, M.Y. 2008. Absorção de fósforo em dozes genótipos de milho inoculados com fungo micorrízico arbuscular em solo de cerrado. *Ciência Rural* 38(9): 2441-2447.

Rillig, M.C. 2004. Arbuscular mycorrizal, glomalin and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Sience* 84: 355-363.

Rillig, M.C., Wright, S.F., Nichols, K.A., Schmidt, W.F., Torn, M.S. 2001. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant and Soil* 233 (2): 167-177.

Santos, J.C.P., Kaminski, J., Ernani, P.R., Mafra, A.L. 1996. Rendimento de massa seca e absorção de fósforo pelo milho afetado pela aplicação de fósforo, calcário e inoculação com fungos micorrízicos. *Ciência Rural* 26(1): 63-67.

Sartor, L.R., Assmann, A.L., Assmann, T.S., Miyazawa, M., Carvalho, P.C.F. 2012. Effect of swine residue rates on corn, common bean, soybean and wheat yield. Revista Brasileira de Ciência do Solo, 36:661-669.

Schneider, J., Klauberg Filho, O., Fontoura, S.M., Alves, M.V. 2011. Influência de diferentes sistemas de manejo e calagem em experimento de longa duração sobre fungos micorrízicos arbusculares. *Ciência e Agrotecnologia* 35(4): 701-709.

Silva, D.K.A., Silva, F.S.B., Yano-Melo, A.M., Maia, L.C. 2008. Uso de vermicomposto favorece o crescimento de mudas de gravioleira (*Annona muricata* L. 'Morada') associadas a fungos micorrízicos arbusculares. *Acta Botanica Brasilica* 22(3): 863-869.

Silva, F.C. 1999. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia; Rio de Janeiro: Embrapa Solos; Campinas: Embrapa Informática Agropecuária, p. 370.

Silva, F. S. B. 2006. Fase assimbiótica, produção, infectividade e efetividade de fungos micorrízicos arbusculares em substratos orgânicos. Tese de doutorado. Universidade Federal de Pernambuco. Recife.

Silva, J., Silva, P.S.L., Oliveira, M., Silva, K.M.B. 2004. Efeito de esterco bovino sobre os rendimentos de espigas verdes e de grãos de milho. *Horticultura Brasileira* 22(2): 326-331.

Silva, L. G., Mendes, I.C., Reis Junior, F.B., Fernandes, M.F., Medlo, J. T.; Kato, E. Atributos físicos, químicos e biológicos de um latossolo de cerrado em plantio de espécies florestais. 2009. *Pesquisa agropecuária Brasileira*, 44: 613-620.

Silva, T.O., Menezes, R.S.C., Tiessen, H., Sampaio, E.V.S.B., Salcedo, I. H., Silveira, L. M. 2007. Adubação orgânica da batata com esterco e, ou, *Crotalaria juncea*. I. Produtividade vegetal e estoque de nutrientes no solo em longo prazo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 31(1): 39-49.

Silva, R.R., Silva, M.L.N., Cardoso, E.L., Moreira, F.M.S., Curi, N., Alovisi, A.M.T. 2010. Biomassa e atividade microbiana em solo sob diferentes sistemas de manejo na região fisiográfica Campos das vertentes – MG. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 34: 1585-1592.

Singh, P.K., Singh, M., Tripathi, B.N. 2013. Glomalin: an arbuscular mycorrhizal fungal soil protein. *Protoplasma* 250: 663-669.

Siqueira, J.O., Klauberg-Filho, O. 2000. Micorrizas arbusculares: a pesquisa brasileira em perspectiva. In: Novais, R.F.; Alvarez, V.H.; Schaefer, C.E.G.R. (Eds.). I Tópicos em ciências do solo. Viçosa SBCS, pp. 235-259.

Siqueira Neto, M., Piccolo, M.C., Scopel, E., Costa Junior, C., Cerri, C.C., Bernoux, M. 2009. Carbono total e atributos químicos com diferentes usos do solo no Cerrado. *Acta Scientiarum*. *Agronomy* 31(4): 709-717.

Sousa, C.S., Menezes, R.S.C., Sampaio, E.S.B.V., Oehl, F., Maia, L.C., Garrido, M.S., Lima, F.S. 2012. Occurrence of arbuscular mycorrhizal fungi after organic fertilization in maize, cowpea and cotton intercropping systems. *Acta Scientiarum Agronomy* 34(2): 149-156.

Sousa, C.S., Menezes, R.S.C., Sampaio, E.V. S.B., Lima, F.S. 2011. Influências da temperatura de armazenamento e de extratores na determinação de glomalina em solos paraibanos. *Revista Ciência Agronômica* 42(4): 837-841.

Sousa, C.S., Menezes, R.S.C., Sampaio, E.V.S.B., Lima, F.S., Oehl, F., Maia, L.C. 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi within agroforestry and traditional land use systems in semi-arid Northeast Brazil. Acta Scientiarum. *Agronomy* 35(3): 307-314.

Ta, C.T., Weiland, R.T. 1992. Nitrogen partitioning in maize during ear development. *Crop Science*, 32: 443-451.

Thorne, M., Rhodes, L., Cardina, J. 2013. Soil compaction and arbuscular mycorrhizae affect seedling growth of three grasses. *Open Journal of Ecology* 3(7): 455-463.

Thomas, R.L., Shearrd, R.W., Moyer, J.R. 1967. Comparasion of conventional and automated procedures for N, P and K analysis of plant material using a single digestion. *Agronomy Journal, Madison* 59: 240-243.

Tian, H., Drijberc, R.A., Zhanga, J.L., Li, X.L. 2013. Impact of long-term nitrogen fertilization and rotation with soybean on the diversity and phosphorus metabolism of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi within the roots of maize (*Zea mays* L.). *Agriculture, Ecosystems and Environment* 164: 53-61.

Trannin, I.C.B., Siqueira, J.O., Moreira, F.M.S. 2007. Características biológicas do solo indicadoras de qualidade após dois anos de aplicação de biossólido industrial e cultivo de milho. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 31: 1173-1184.

Trindade, A.V., Faria, N.G., Almeida, F.P. 2000. Uso de esterco no desenvolvimento de mudas de mamoeiro colonizadas com fungos micorrízicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35(7): 1389-1394.

Vandresen, J., Nishidate, F.R., Torezan, J.M.D., Zangaro, W. 2007. Inoculação de fungos micorrízicos arbusculares e adubação na formação e pós-transplante de mudas de cinco espécies arbóreas nativas do sul do Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 21(4): 753-765.

Willis, A., Rodrigues, B.F., Harris, P.J.C. 2013. The ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Critical Reviews in Plant Sciences* 32:1–20.

Wright, S.F., Anderson, R.L. 2000. Aggregate stability and glomalina in alternative crop rotations for the central Great Plains. *Biology & Fertility of Soils* 31(3-4): 249-253.

Wright, S.F., Upadhyaya, A. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalina, a glicoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 198 (1): 97-107.

Wuest, S.B., Caesar-TonThat, T.C., Wright, S.F., Williams, J.D. 2005. Organic matter additon, N, and residue burning effects on infiltration biological and physical properties of na intensively tilled silt-loam soil. *Soil and Tillage Research* 84: 154-167.